

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Gestão de Risco de Dioxinas em Produtos Avícolas

Miguel José Sardinha Oliveira Cardo

CONSTITUIÇÃO DO JURI:

PRESIDENTE:

Doutor Fernando Manuel d'Almeida Bernardo

ORIENTADOR

Doutor Fernando Manuel d'Almeida
Bernardo

VOGAIS:

Doutor Virgílio da Silva Almeida

Doutor José Manuel de Melo Henriques Almeida

Doutora Anabela de Sousa Santos da Silva Moreira

Doutora Valeska Lima Andreozzi Félix

CO-ORIENTADOR

Doutora Valeska Lima Andreozzi Félix

2008
Lisboa

UNIVERSIDADE TÉCNICA DE LISBOA

Faculdade de Medicina Veterinária

Gestão de Risco de Dioxinas em Produtos Avícolas

Dissertação para a obtenção do grau de mestre
em Saúde Pública Veterinária

Miguel José Sardinha Oliveira Cardo

CONSTITUIÇÃO DO JURI:

PRESIDENTE:

Doutor Fernando Manuel d'Almeida Bernardo

ORIENTADOR

Doutor Fernando Manuel d'Almeida
Bernardo

VOGAIS:

Doutor Virgílio da Silva Almeida

CO-ORIENTADOR

Doutora Valeska Lima Andreozzi Félix

Doutor José Manuel de Melo Henriques
Almeida

Doutora Anabela de Sousa Santos da Silva
Moreira

Doutora Valeska Lima Andreozzi Félix

2008
Lisboa

*Dedico este trabalho
à Marta, ao Manuel, à Inês e à Teresa,
por tudo.*

Agradecimentos

Ao Dr. Carlos Agrela Pinheiro, Director Geral de Veterinária, pelas facilidades concedidas no acesso aos dados.

Ao meu orientador e amigo, Fernando Bernardo pelo incentivo e apoio que mais uma vez me deu para a evolução da minha carreira académica e pela ajuda no desenvolvimento e revisão deste trabalho, sem a qual a sua realização não teria sido possível.

À Sr.^a Professora Antónia Turkman do Departamento de Estatística e Investigação operacional da Faculdade de Ciências da Universidade de Lisboa pela disponibilidade apresentada para colaborar na análise dos dados deste trabalho e à Sr.^a Doutora Valeska Andreozzi, da mesma universidade, pelo tratamento estatístico dos dados e pela persistência e disponibilidade que demonstrou ao longo deste trabalho.

À Professora Gabriela Veloso pela amizade e disponibilidade

Às minhas colegas de trabalho na Direcção Geral de Veterinária, Graça Domingos Mariano, Elisa Ferreira e Inês Almeida pelo desenvolvimento, implementação e coordenação do Plano de Acção das dioxinas a nível nacional, pelo seu grande profissionalismo e pela sua imprescindível colaboração na elaboração e redacção deste trabalho, mesmo nas alturas mais críticas que implicaram um grande sacrifício pessoal.

RESUMO

As Dioxinas são compostos orgânicos policlorados, contaminantes da cadeia alimentar conhecidos pelos seus efeitos adversos para a saúde humana e animal, nomeadamente problemas de desenvolvimento embrionário e físico, carcinogénicos e reprodutivos. Não existe um limite de segurança consistente, uma vez que é possível induzir cancro em animais de laboratório mesmo com doses muito baixas. As dioxinas são eficientemente absorvidas no tracto gastrointestinal e acumulam-se no organismo no tecido adiposo, aumentando o risco com a intensidade e com a duração da exposição, ou seja, com a idade. No que respeita à carcinogenicidade, o congénere tetraclorado, a "2,3,7,8-TCDD" (tetracloro-dibenzeno-para-dioxina) é uma das substâncias mais tóxicas com um dos maiores potenciais carcinogénicos para os humanos.

Apresenta-se o estudo de caso de contaminação da cadeia alimentar por dioxinas em carnes de aves, ocorrido em Portugal, em 2006 e procede-se à análise da eficácia das medidas adoptadas para combater este grave risco para a saúde pública.

Os resultados do estudo permitem concluir com segurança que a fonte de contaminação original das aves era as respectivas camas, constituídas por aparas de madeira obtidas de pinheiros ardidos nos fogos florestais de Verão.

Os factos descritos e analisados demonstram que existe uma estreita correlação entre as contaminações por dioxinas induzidas acidentalmente na natureza e as respectivas repercussões na cadeia alimentar.

ABSTRACT

Dioxins are polichlorinated organic compounds, which can be introduced in food chain and are known for having adverse effects in human and animal health, causing problems in embryo, in physical development and are carcinogenic and affect reproductive function.

The security level is not known with confidence, attending that is possible to induce cancer in laboratory animals even with very low doses.

Dioxins are actively absorbed in the gastrointestinal tract and accumulate in the organism in the adipose tissue, increasing the risk with the intensity and duration of the exposure, i.e. with the age.

In respect to carcinogenicity, the tetra chlorinated congener, “2,3,7,8-TCDD” (tetra chlorinated-dibenzo-dioxin) is one of the most toxic substances with a well known carcinogenic potential for human beings.

We present a case study of Dioxin food chain contamination, in poultry meat, occurred in Portugal, 2006. The current study tries to assess the efficacy of the measures taken to address the problem which have a high risk to public health.

The results of the study allow us to firmly conclude that the origin of the contamination of poultry meat was the respective litters, which were composites by wood litters from pine trees burned in the summer forest fires.

The assessed data demonstrates a good correlation between the profile of dioxin contamination accidentally induced in nature and their respective repercussions in food chain.

Comunicação afixada e resumo publicado no âmbito da dissertação:

Cardo, M.; Mariano, G.; Pinto, M.; Ferreira, E.; Martins, A.; Teixeira, A.; Almeida, I.; Bernardo, F.; Pinheiro, C.A. (2007). Gestão de risco de dioxinas em produtos avícolas. 8º Encontro de Química dos alimentos, Beja, Março de 2007. Organizado por Instituto Politécnico de Beja, Escola Superior Agrária de Beja e Sociedade Portuguesa de Química, Beja, Portugal. 383-387

ÍNDICE

I. Parte – As dioxinas e a segurança sanitária dos alimentos	1
(Revisão bibliográfica).....	1
1. Introdução	1
1.1. Nota histórica	4
1.2. Estrutura química das dioxinas.....	8
1.3. Fontes de dioxinas	9
1.4. Perfil dos congêneres em diferentes fontes de PCDDs/PCDFs.....	15
1.5. Toxicidade das dioxinas	16
1.5.1. Factores de Equivalência de Toxicidade e Concentração Tóxica Equivalente	17
1.5.2. Exposição diária Aceitável	21
1.5.3. Efeito das dioxinas na saúde.....	22
1.6. Contaminação dos alimentos por dioxinas	29
1.7. Legislação sobre o controlo de dioxinas nos alimentos	35
II. Parte - Gestão de risco de dioxinas em carnes de aves.....	48
(Estudo de caso).....	48
1. Objectivos.....	48
1.1. Antecedentes do problema	49
2. Material e métodos	51
2.1. Plano de acção das dioxinas	51
2.2. Método analítico.....	53
2.3. Análise estatística	55
3. Resultados.....	59
3.1. Análise dos dados	61
3.2. Análise de camas de aves	61
3.3. Análise de músculo de aves.....	65
3.4. Comparação do padrão dos perfis da contaminação das camas com o perfil da carne das aves.	68
3. 5. Avaliação geral.....	87
4. Discussão	89
5 - Conclusões.....	100
III. Parte - Referências bibliográficas	103

1 - Bibliografia.....	103
IV. Parte – Anexos	115
Anexo 1 – Mapa dos resultados obtidos em cada uma das amostras por exploração, matriz e código	116
Anexo 2 – Mapa dos resultados obtidos nas amostras de camas de aves	121
Anexo 3 – Mapa dos resultados obtidos nas amostras de carnes de aves.....	124
Anexo 4 - Comunicado à avicultura	128

ÍNDICE DE FIGURAS

Figura 1 - Estrutura de um composto PCDD.	8
Figura 2 - Estrutura de um composto PCDF	8
Figura 3 - Estrutura de um composto PCB.	9
Figura 4 - Estrutura molecular dos PCBs e posições de ligação dos átomos de cloro	17
Figura 5 - Efeitos das dioxinas na saúde humana	26
Figura 6 - Efeitos das dioxinas na saúde humana	27
Figura 7 - Diagrama de fluxo dos PCDD/PCDFs no ambiente e vias de contaminação dos alimentos para animais e dos géneros alimentícios.	31
Figura 8 - Dendograma dos perfis dos congéneres de dioxina nas amostras de camas de aviários.	63
Figura 9 - Dendograma dos perfis dos congéneres de dioxina nas amostras de músculo de ave.	66
Figura 10 - Aspecto das diferentes operações executadas nas unidades de serração.	95

ÍNDICE DE TABELAS

Tabela 1 - Factores de Equivalência Tóxica (TEF) > 0 para os PCDD/Fs e PCBs.....	19
Tabela 2 - Factores tóxicos equivalentes para PCDD/PCDFs propostos pela NATO/CCMS (1988) e pela WHO (1998).	20
Tabela 3 - Nomenclatura utilizada neste trabalho para os diferentes congéneres das dioxinas e furanos	61

ÍNDICE DE GRÁFICOS

Gráfico 1 - Notificações de alerta de acordo com o tipo de risco e de perigo 2004.....	4
Gráfico 2 - Notificações de alertas de acordo com a categoria de perigo 2005	4

Gráfico 3 - Gráfico da concentração padronizada dos diferentes congéneres.....	56
Gráfico 4 - Resultados padronizados das análises efectuadas em camas.....	62
Gráfico 5 - Perfil dos congéneres de dioxina nas amostras de cama (três grupos).	64
Gráfico 6 - Resultados padronizados das análises efectuadas em músculo de aves.	65
Gráfico 7 - Perfil dos congéneres de dioxina nas amostras de músculo (seis grupos).....	67
Gráfico 8 - Comparação aves cluster 1 com as camas cluster 1	69
Gráfico 9 - Comparação aves cluster 1 com as camas cluster 2.....	70
Gráfico 10 - Comparação aves cluster 1 com as camas cluster 3.....	71
Gráfico 11 - Comparação aves cluster 2 com as camas cluster 1.....	72
Gráfico 12 - Comparação aves cluster 2 com as camas cluster 2.....	73
Gráfico 13 - Comparação aves cluster 2 com as camas cluster 3.....	74
Gráfico 14 - Comparação aves cluster 3 com as camas cluster 1	75
Gráfico 15 - Comparação aves cluster 3 com as camas cluster 2	76
Gráfico 16 - Comparação aves cluster 3 com as camas cluster 3.....	77
Gráfico 17 - Comparação aves cluster 4 com as camas cluster 1.....	78
Gráfico 18 - Comparação aves cluster 4 com as camas cluster 2.....	79
Gráfico 19 - Comparação aves cluster 4 com as camas cluster 3.....	80
Gráfico 20 - Comparação aves cluster 5 com as camas cluster 1.....	81
Gráfico 21 - Comparação aves cluster 5 com as camas cluster 2	82
Gráfico 22 - Comparação aves cluster 5 com as camas cluster 3.....	83
Gráfico 23 - Comparação aves cluster 6 com as camas cluster 1.....	84
Gráfico 24 - Comparação aves cluster 6 com as camas cluster 2.....	85
Gráfico 25 - Comparação aves cluster 6 com as camas cluster 3	86
Gráfico 26 - Amostras Cluster Aves 4 com Média das Camas do Cluster 3	98

ÍNDICE DE QUADROS

Quadro 1 - Quantidades exportadas de PCP e PCP Na por dois produtores dos EUA	33
Quadro 2 - Número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente para cada estado membro.	40
Quadro 3 - Teores máximos do somatório de dioxinas e furanos (PCDD/F-TEQ-OMS) e teores máximos do somatório de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina (PCDD/F-PCB-TEQ-OMS).	42
Quadro 4 - Níveis de acção para dioxinas, furanos e PCB	44

Quadro 5 - Número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente para cada estado membro.	46
Quadro 6 - Padronização da concentração de diferentes congéneres da mesma amostra	55
Quadro 7 - valores de r^2 na comparação de amostras.....	57
Quadro 8 - Amostras colhidas de acordo com a respectiva matriz	59
Quadro 9 - Correlação e variabilidade dentro de cada um dos três grupos de camas	64
Quadro 10 - Correlação e variabilidade dentro de cada um dos seis grupos de músculo	68
Quadro 11 - Resumo da comparação dos padrões do perfil da contaminação das camas e da carne das aves.	87

Abreviaturas

ATSDR – Agência para Substâncias Tóxicas e Registo de Doença (Agency for Toxic Substances and Disease Registry)

CCAH – Comité Científico da Alimentação Humana da UE

CDC – Centro para o Controlo e a Prevenção da Doença EUA

DGV – Direcção-Geral de Veterinária

DL₅₀ – Dose letal 50

dp – desvio padrão

DRA - Direcção Regional de Agricultura

DRAA – Direcção Regional de Agricultura Alentejo

DRABL – Direcção Regional de Agricultura da Beira Litoral

DRAEDM – Direcção Regional de Agricultura Entre Douro e Minho,

DRARO – Direcção Regional de Agricultura Ribatejo e Oeste

ECSCF – Comité Científico da União Europeia para os Géneros Alimentícios (European Commission Scientific Committee on Foods)

EM – Estado Membro

ETAR – Estação de Tratamento de Águas Residuais

IGAOT – Inspeção-Geral Ambiente e Organização do Território

INETI – Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação

JECFA/WHO – Comité de Especialistas em Aditivos Alimentares da OMS (Joint Expert Committee on Food Additives of the World Health Organization)

LAQAS – Laboratório de Química Orgânica Analítica e de síntese

NATO/CCMS - North Atlantic Treaty Organization /Committee on the Challenges of Modern Society

OMS – Organização Mundial de Saúde

PCB – Bifenilos policlorados

PCDD – Dibenzo-dioxinas policloradas

PCDF – Dibenzofuranos policlorados

PNCR – Plano Nacional de Controlo de Resíduos

POP – Poluentes Orgânicos Persistentes

PVC – Policlorovinilos

RASFF – Rapid Alert System for Food and Feed

TCDD – Tetracloro-dibenzeno-para-dioxina

TDI – Exposição Diária Aceitável (Tolerable Daily Intake)

TEF – Factores de Equivalência de Toxicidade

TEQ – Concentração Tóxica Equivalente de TCDD

TWI – Exposição Semanal Aceitável (Tolerable Weekly Intake)

UE – União Europeia

USEPA – Agência de Protecção Ambiental dos Estados Unidos

WHO – Organização Mundial de Saúde (World Health Organization)

WHO-ECEH - Organização Mundial de Saúde – Centro Europeu para o Ambiente e Saúde
(World Health Organization - European Centre for Environment and Health)

I. Parte – As dioxinas e a segurança sanitária dos alimentos

(Revisão bibliográfica)

1. Introdução

O termo «dioxinas» abrange um conjunto de compostos orgânicos policlorados sendo 75 dibenzo-p-dioxinas (PCDD) e 135 dibenzofuranos (PCDF), dos quais 17 são preocupantes a nível toxicológico (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b). O composto mais tóxico é a 2,3,7,8-tetraclorodibenzo-p-dioxina (TCDD), classificado como um agente cancerígeno em humanos pelo Centro Internacional de Investigação do Cancro e por outras organizações internacionais de prestígio (Fiedlrer, *et al.*, 2000).

O Comité Científico da Alimentação Humana (CCAH) da UE, em consonância com a Organização Mundial de Saúde (WHO), concluiu que as dioxinas não têm efeitos cancerígenos abaixo de um determinado limite. Outros efeitos nocivos, como a endometriose, os efeitos neurotóxicos e imunossuppressores ocorrem em níveis inferiores e por conseguinte consideram-se relevantes para a determinação de uma ingestão tolerável (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b).

Os compostos bifenilos policlorados (PCB) também são referidos no Regulamento 2375/2001/CE de 29 de Novembro e identificados como um grupo de 209 compostos congéneres diferentes que se podem dividir em dois grupos de acordo com as suas propriedades toxicológicas. Destes compostos, 12 apresentam propriedades toxicológicas semelhantes às dioxinas, sendo por conseguinte denominados “PCB sob a forma de dioxina”. Os restantes PCB não apresentam uma toxicidade semelhante à das dioxinas, tendo um perfil toxicológico diferente. Conforme é referido neste Regulamento, cada composto da família das dioxinas ou dos PCB sob a forma de dioxina apresenta um nível diferente de toxicidade. Para possibilitar a quantificação da toxicidade total destes diferentes compostos afins, introduziu-se o conceito de factores de equivalência de toxicidade (TEF) de forma a facilitar a avaliação dos riscos bem como o controlo regulamentar. Significa pois que o resultado analítico relativo aos 17 compostos afins de dioxinas e aos 12 de PCB sob a forma de dioxina se exprime em termos de uma única unidade quantificável: “concentração tóxica equivalente de TCDD” (TEQ).

As dioxinas e os PCB são extremamente resistentes à degradação química e biológica e, por conseguinte, persistem no ambiente acumulando-se nas cadeias alimentares humana e animal (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b).

Mais de 90 % da exposição humana às dioxinas tem origem na alimentação. Os géneros alimentícios de origem animal contribuem normalmente para cerca de 80% da exposição total

(Comissão das Comunidades Europeias, 2002b). A exposição dos animais às dioxinas provém essencialmente dos alimentos para animais, uma vez que a contaminação dos alimentos para consumo humano está directamente relacionada com a contaminação dos alimentos para animais, assim, deve seguir-se uma abordagem integrada para reduzir a incidência de dioxinas ao longo da cadeia alimentar, ou seja, desde as matérias-primas para a alimentação animal, passando pelos animais para produção de alimentos, até aos seres humanos (Comissão das Comunidades Europeias, 2001a).

Por conseguinte, os alimentos para animais e em alguns casos outros factores do ambiente de produção, como o solo ou as camas e o ar, podem ser fontes potenciais de dioxinas (Conselho da União Europeia, 2001).

O CCAH adoptou em 30 de Maio de 2001, um parecer relativo à avaliação dos riscos das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina nos alimentos; trata-se de uma actualização baseada em novas informações científicas disponibilizadas após a adopção do parecer do CCAH sobre esta matéria, de 22 de Novembro de 2000. Foi estabelecido por este comité uma exposição semanal aceitável (TWI) para as dioxinas e os PCB sob a forma de dioxina de 14 pg TEQ–WHO/kg de peso corporal. As estimativas das exposições indicam que uma proporção considerável da população da Comunidade Europeia é exposta através da dieta a valores superiores à TWI, sendo que determinados grupos populacionais, em alguns países, poderão correr maiores riscos devido a hábitos alimentares específicos (Conselho da União Europeia, 2001).

Têm sido implementadas medidas com o objectivo de continuar a reduzir a contaminação ambiental provocada pela presença e pela libertação de dioxinas, de modo a limitar o impacto da poluição ambiental na contaminação dos alimentos para animais e dos géneros alimentícios. Em 24 de Outubro de 2001, a Comissão Europeia enviou uma Comunicação ao Conselho, ao Parlamento Europeu e ao Comité Económico e Social relativa a uma estratégia comunitária em matéria de dioxinas, furanos e policlorobifenilos. A estratégia incidia nas medidas actuais e futuras para reduzir a libertação no ambiente de policlorodibenzodioxinas (PCDD), vulgarmente conhecidas como dioxinas, de policlorodibenzofuranos (PCDF), mais genericamente designados furanos, e de policlorobifenilos (PCB), evitando assim os efeitos nocivos no ambiente e na saúde, porque (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b):

- A bioacumulação ao longo da cadeia trófica, produz-se também a partir das libertações de aterros, solos poluídos ou sedimentos. A diminuição abrupta dos “valores de referência” no ambiente registados nos últimos 20 anos não se repetirá provavelmente nas próximas décadas porque apesar do esforço efectuado no sentido da diminuição das emissões, existem depósitos que vão continuar a ser uma fonte constante de libertação;
- As propriedades tóxicas parecem ter sido subestimadas, tendo surgido novos dados epidemiológicos e toxicológicos, especialmente no que diz respeito a efeitos

endócrinos, na reprodução e no desenvolvimento neurológico. Estes dados indicam que as dioxinas e alguns PCB têm um impacto na saúde maior do que inicialmente se supunha, ainda que em doses muito pequenas, em particular nos grupos mais vulneráveis, tais como os fetos e os lactentes, directamente expostos aos níveis maternos acumulados;

- A exposição por via alimentar a dioxinas e PCB sob a forma de dioxinas de uma parte considerável da população europeia, excede a exposição semanal aceitável (TWI) ou a exposição diária aceitável (TDI);
- A Comunidade Europeia assumiu novas obrigações ao tornar-se parte contratante em várias convenções relativas às dioxinas e PCB;
- O alargamento da União Europeia aos países candidatos à adesão aumentou provavelmente a exposição média na UE. De facto, actualmente os novos EM produzem muito provavelmente emissões superiores às da UE devido à diversidade de legislação e ao grande número de instalações industriais obsoletas. Contribuem, certamente, em grande escala para o total de dioxinas libertadas para o ambiente na Europa, o que salienta a necessidade de garantir o cumprimento do acervo ambiental relevante nos países que recentemente aderiram à UE.

A recomendação da Comissão (2002/201/CE), de 4 de Março de 2002, relativa à redução da presença de dioxinas, furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios obriga a que, nos casos de incumprimento das disposições da Directiva 1999/29/CE e do Regulamento (CE) n.º 466/2001 e nos casos em que se verificarem níveis de dioxinas superiores aos níveis especificados, os estados-membros, em cooperação com os operadores dêem início a pesquisas para identificar a fonte de contaminação, verifiquem se estão presentes PCB sob a forma de dioxina e tomem medidas para reduzir ou eliminar a fonte de contaminação.

Os objectivos da estratégia europeia são:

- Avaliar o estado actual do ambiente e dos ecossistemas;
- Reduzir a exposição humana a dioxinas e PCB a curto prazo e mantê-la a níveis seguros a médio e longo prazo;
- Reduzir as emissões ambientais das dioxinas e PCB.

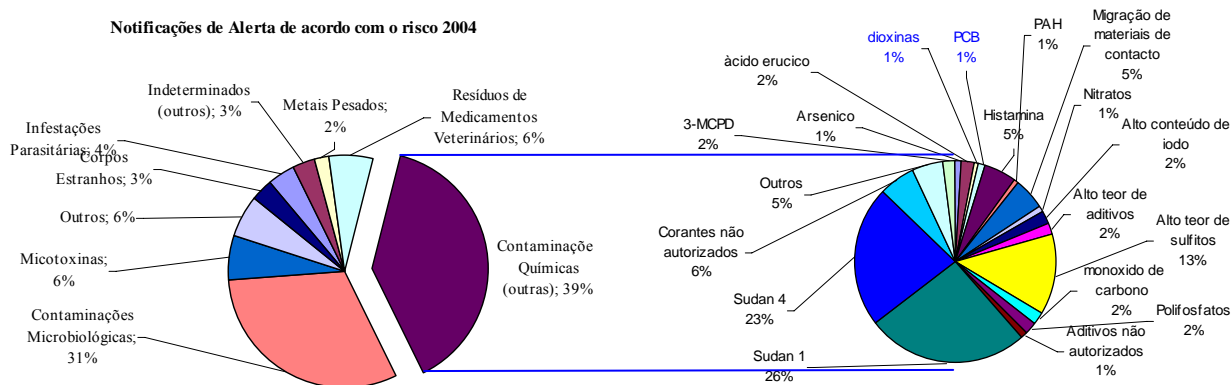
O objectivo quantitativo consiste em:

- Reduzir os níveis de ingestão humana para menos de 14 pg WHO-TEQ/kg de peso corporal/ semana.

No ano de 2004, 39 % das notificações à Rede de Alerta Rápido (RASFF – “Rapid Alert System for Food and Feed”) referiram-se a mercadorias com perigos químicos e desse total, 1 % das notificações de alerta referiam-se a mercadorias que apresentavam dioxinas e 1% a mercadorias com PCB (Gráfico 1) (European Commission, 2005).

Gráfico 1 - Notificações de alerta de acordo com o tipo de risco e de perigo em 2004.

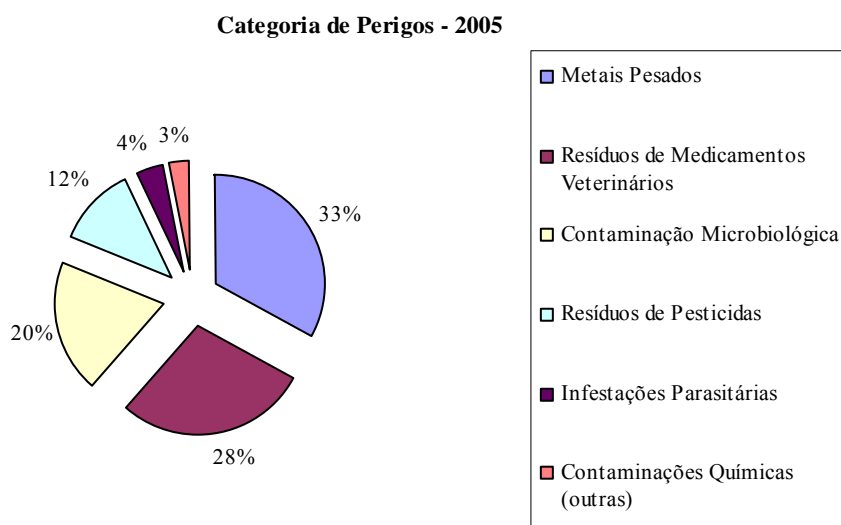
Fonte: Relatório 2004 RASFF.



No ano de 2005 apenas 3% das notificações à rede de Alerta Rápido ocorreram por mercadorias contaminadas por perigos de natureza química.

Gráfico 2 – Notificações de alerta de acordo com a categoria de perigo em 2005

Fonte: Relatório 2005 RASFF.



1.1. Nota histórica

As primeiras descrições de efeitos tóxicos, causados por compostos orgânicos policlorados, remontam a 1947, quando na Baía de Hudson, nos EUA, foram observadas e descritas incidências anormalmente elevadas de cancro em pescadores, tendo-se demonstrado a sua clara correlação com os teores elevados de PCBs na gordura dos peixes daquela baía. De então para

cá muitos outros episódios têm sido descritos, estudados e encontram-se bem documentados; os mais famosos dos quais foram os que ocorreram em Yusho (Japão), Yu-Cheng (Taiwan), no Michigan (EUA), no Vietname (Agente laranja), Seveso (Itália), Bopal (Índia), na Suécia, na Escócia e o mais recente na Bélgica, em 1999.

No incidente de Yusho, que ocorreu em 1968, em Fukuoka no Japão, foram atingidas cerca de 1200 pessoas. Para além de problemas de saúde muito graves traduzidos em alterações cutâneas (acne, pigmentação e hiperqueratose), registou-se um significativo aumento do número de mortes por cancro em indivíduos do sexo masculino, tendo-se detectado também efeitos adversos em recém-nascidos: peso baixo, pele muito acastanhada, deformações nas gengivas, nascendo alguns já com dentes mas com pigmentação anormal. O alimento incriminado neste acidente foi óleo de arroz contaminado com 2 a 3 g de PCBs / kg, o que correspondeu em média a uma exposição diária de 633 mg de PCBs, ou seja, uma exposição cerca de 100 000 vezes superior à exposição diária aceitável (TDI). Este óleo foi produzido pela empresa japonesa Kanemi Rice Oil e continha um pesticida comercialmente conhecido como Kaneclhor 400 que é uma mistura comercial contendo PCB (WHO, 1993; Penteado e Vaz, 2001; Furue, *et al.*, 2005; Charnley e Kimbrough, 2005).

O incidente de Yu-Cheng, que ocorreu em Taiwan em 1979, também teve na sua origem o óleo de arroz. O número de pessoas que foram vítimas deste incidente foi estimado em cerca de 2000. Os principais sinais da intoxicação foram edema peri-ocular, corrimento ocular excessivo, retardamento dos reflexos nervosos, escurecimento da pele, deformações profundas e intensas pigmentações dentárias nas crianças e aumento da incidência de cancro. O óleo de arroz contaminado, usado em flocos de cereais, continha entre 53 e 99 mg /Kg de PCBs. Estes contaminantes foram introduzidos na cadeia alimentar, através do sistema de extracção húmida do óleo. Estimou-se que o total acumulado de PCBs, especialmente PCDFs, por pessoa, variou entre 700 e 1800 mg. O teor destes compostos no sangue das vítimas era de 50 a 100 µg / litro (WHO, 1993; Penteado e Vaz, 2001).

Durante a guerra do Vietname, as tropas americanas aplicaram entre 1965 e 1971, cerca de 72 milhões de litros de herbicidas contendo 2,3,7,8 Tetraclorodibenzo-p-dioxina como desfolhante das zonas junto do perímetro das suas bases. O Agente Laranja era um fenoxi-herbicida muito utilizado nestas acções. Em estudos realizados em 1996 encontraram-se níveis de 34 pg TCDD/g em pescado, 82 pg PCDD/g em gordura de pato, em indivíduos que viviam perto das bases militares, encontraram-se níveis da ordem de 1832 ppt, no leite materno em 1970, da ordem dos 103 ppt no tecido adiposo em 1980 e colheitas de sangue efectuadas em 1991/92, revelaram teores da ordem dos 33 ppt de TCDD, enquanto que amostras colhidas em habitantes do norte do Vietname, onde o agente laranja não foi utilizado, apresentaram teores de

TCDD inferiores a 2,9 ppt (Schechter, *et al.*, 1995, Gochfeld, 2001, Schechter, *et al.*, 2001, Dwernychuk, *et al.*, 2002).

Em 1976, a Norte de Milão, em Seveso, uma fábrica de pesticidas sofreu uma explosão num dos seus reactores e disseminou dioxinas (TCDD) pelos solos circundantes, num raio de 6 km. Num total de 1800 hectares de terrenos foram atingidos, havendo necessidade de deslocar 730 habitantes desta região, que haviam ficado expostos durante 15 dias. Nas crianças detectaram-se os habituais sinais cutâneos; registando-se posteriormente (15 anos subsequentes) aumento significativo da incidência de leucemia e de mielomas em mulheres. Os outros tipos comuns de cancro não sofreram qualquer aumento (Bertazzi, *et al.*, 1998).

A cidade do Bhopal, na Índia central, sofreu em 1984 o pior desastre industrial conhecido, no qual 500000 habitantes foram expostos a um gás tóxico da empresa de pesticidas Union Carbide Índia Ltd.. Cerca de 8 000 pessoas tiveram morte imediata e cerca de 150 000 sofreram de lesões crónicas. A fábrica encontra-se desactivada mas ainda mantém armazenados em alguns dos edifícios grandes quantidades de produtos químicos. De acordo com os resultados de uma investigação da Greenpeace a água e o ambiente envolventes ainda continuam contaminados. Muitos dos poluentes orgânicos persistentes eram tóxicos organoclorados com clorobenzenos, clorociclohexanos e clorociclohexenos. Outros compostos organoclorados aromáticos presentes eram naftalenos clorados e derivados como toluenos clorados, bifenis clorados e DDT. Também se encontravam armazenados organoclorados alifáticos tais como penta e hexacloroetano e hexaclorobutadieno (Stringer, *et al.*, 2002)

Desde os anos 70 que o mar Báltico é considerada a região da Europa mais poluída com dioxinas. As indústrias pesadas da Europa de Leste despejaram efluentes durante décadas, sem qualquer tratamento. Os Países ribeirinhos do Báltico (Suécia e Finlândia) mantêm um programa de vigilância activa dos teores de Dioxinas e PCBs em diversos produtos de origem marinha (peixes) e em animais silvestres (renas, caribus, focas) e em alimentos (leites, aves, ovos) incluindo o leite das mulheres que amamentam. As farinhas produzidas com peixes capturados em zonas muito poluídas (Báltico, Mar Negro e Ártico) podem conter teores apreciáveis de PCDD/F e PCB e atingir por essa via a alimentação animal (Watterson, *et al.*, 1999; Jensen, 2003; Helsinki Commission, 2004; Roots, *et al.*, 2006; Roots, *et al.*, 2007).

Na Holanda, em 1989, também foram detectados níveis anormalmente elevados de dioxinas, nas águas, nos solos, nas pastagens e em leites. Este acidente ocorreu na sequência de um incêndio nas instalações da indústria química alemã Sandoz, devido a uma falha de dois fornos incineradores, cujos efluentes foram drenados sem tratamento para o Rio Reno e, através das respectivas águas, acabou por contaminar também a França e uma vasta área de pastagens holandesas e trouxe para a discussão a possibilidade de contaminações transfronteiriças (Commission Internationale pour la Protection du Rhin, 2000).

No Brasil, entre 1997 e 1998, numa fábrica de subprodutos da indústria de sumos de citrinos, foram introduzidos acidentalmente PCDD/Fs em “granulado” de cascas destes frutos desidratados. Estas matérias-primas foram exportadas para a Europa (França, Bélgica, Holanda e Alemanha) e utilizadas na alimentação de vacas leiteiras. Na sequência desta utilização, o teor de PCDD/Fs nos leites de vaca na Alemanha, subiram em média de 0,6 pg I-TEQ/g de gordura, registado em Agosto de 1997, para 1,4 pg I-TEQ/g, em Março de 1998. Em Abril desse mesmo ano foi proibida a incorporação da referida matéria-prima nas rações para animais (Fiedler, 2000; Malisch, 2000; Pereira, 2004).

O acidente na Bélgica em 1999 foi o episódio mais recente. Um acidente com um camião cisterna que transportava óleos de fritura para refinação e incorporação em alimentos para animais misturou-se com o fluido de refrigeração do contentor que continha dioxinas e congéneres. O óleo acabou por ser inadvertidamente utilizado e causou uma contaminação da carne de diversos animais em vários países onde a ração foi comercializada (Bernard, *et al.*, 2002). Na sequência deste incidente diversos países tiveram de adoptar medidas de prevenção excepcionais (Buzby e Chandran, 2003; Larebeke, *et al.*, 2001; Larebeke, *et al.*, 2002; Vellinga e Loock, 2002):

A França banuiu todas as carnes de origem Belga;

A Holanda retirou todas as carnes belgas e encerrou 350 explorações de suínos;

Portugal retirou do mercado 10 Ton. de carne de frango;

A Grécia destruiu 146 Ton. de produtos avícolas;

A Rússia fez uma recolha de 20 Ton. de carne de peru;

O Egipto banuiu todos os produtos avícolas importados da União Europeia;

A Argélia adoptou as mesmas medidas seguidas pelo Egipto;

Diversos países impediram importações: França, Holanda, Espanha, Canadá, Austria, Coreia do Sul e Chipre.

Na bibliografia consultada existem muitos outros incidentes descritos, de menor dimensão, mas que também resultaram na libertação de compostos orgânicos policlorados com prejuízos graves para a saúde das pessoas e para o ambiente. A história mais recente revelou que este tipo de acidentes podem produzir também graves problemas económicos e de mercado para os países com grande potencial exportador o que, de certa forma, vêm ainda pressionar mais os governos para a implementação de sistemas de vigilância e monitorização interna das emissões destes compostos, mas também das diferentes vias possíveis e inevitáveis da importação daquele perigo químico. A colaboração numa estratégia a nível global, para estudar o comportamento das dioxinas no ambiente atmosférico, terrestre e aquático, bem como o estabelecimento de modelos que o expliquem é uma das prioridades actuais nesta matéria

(Watterson, *et al.*, 1999). Como já foi percebido, o problema relacionado com a existência de compostos orgânicos clorados no ambiente e na cadeia alimentar, não é um problema dos países em desenvolvimento ou resultante de acidentes com a visibilidade dos aqui relatados, mas sim um problema global e permanente, porque estes poluentes tóxicos são eliminados diariamente em quantidades perigosas e não conhecem fronteiras.

1.2. Estrutura química das dioxinas

As dibenzo-*p*-dioxinas policloradas (PCDDs) e os dibenzo-furanos policlorados (PCDFs), frequentemente designadas por “Dioxinas”, são duas classes de compostos aromáticos, tricíclicos, de função éter e estrutura quase planar. Os anéis de benzeno encontram-se ligados a átomos de Hidrogénio, no entanto, esses átomos podem ser substituídos por átomos de cloro (Fig.1 e Fig.2). Os derivados das PCDDs cujas substituições de cloro ocorreram nas posições tetra-, penta-, hexa-, hepta- e octaclorados são designados TCDD, PeCDD, HxCDD, HpCDD e OCDD, respectivamente (Assunção, 1999; European Commission, 2000a; Fiedler, *et al.*, 2000).

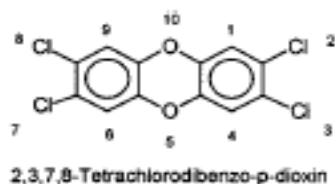


Figura 1 - Estrutura de um composto PCDD (Huwe, 2002).

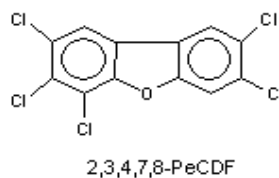


Figura 2 - Estrutura de um composto PCDF (Huwe, 2002).

Dependendo do número de átomos de cloro (1 a 8) e do local da substituição podem distinguir-se diferentes congêneres: 75 para as dioxinas e 135 para os furanos (Assunção, 1999; European Commission, 2000a; Fiedler, *et al.*, 2000).

A toxicidade das dioxinas varia consideravelmente, em particular os congêneres em que a substituição ocorre nas posições 2,3,7 e 8 são especialmente importantes, devido à sua toxicidade, estabilidade e persistência. As moléculas que possuem um diferente número de átomos de cloro são designados de congêneres, e aquelas que possuem o mesmo número de cloros mas em posições diferentes chamam-se isômeros (Assunção, 1999; Fiedler, 2000).

Dos 210 congêneres teoricamente possíveis, apenas 17 tem toxicidade considerável. Um dos PCDD, designado por 2,3,7,8-Tetraclorodibenzo-p-dioxina, é o mais tóxico composto sintético conhecido. A TCDD induziu o aparecimento de uma grande variedade de respostas toxicológicas em animais de laboratório, nomeadamente carcinogenicidade, hepatotoxicidade, fetotoxicidade e toxicidade reprodutiva (Assunção, 1999; Bryant, 2001; Weiss, 2006).

Os PCDD/PCDF são lipofílicos, semi-voláteis, tendo a capacidade de se bioacumular, são tóxicos para os animais e as propriedades químicas e físicas variam sobre diversas ordens de valores, de acordo com o congênere. As suas propriedades foram caracterizadas sendo os congêneres PCDD/PCDF as substâncias modelo para estudar os efeitos biológicos (Assunção, 1999; Fiedler, 2000).

Também os Policlorobifenilos (PCBs) são um grupo de substâncias químicas que contêm cloro em diferentes posições (Fig. 3), podendo existir entre 1 a 10 átomos de cloro na molécula (Eurochlor, 2002).

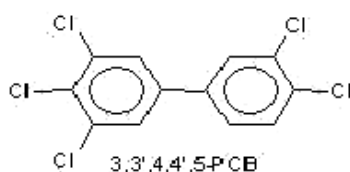


Figura 3 - Estrutura de um composto PCB (Huwe, 2002).

A sua viscosidade, densidade e solubilidade lipídica aumenta com o aumento da substituição por átomos de cloro, contudo a sua solubilidade na água diminui.

1.3. Fontes de dioxinas

As dioxinas são apenas um dos vários grupos de substâncias orgânicas policloradas tóxicas, existindo um extenso número de outros compostos quimicamente aparentados que não sendo dioxinas são igualmente tóxicos, como os PCDF (policloro-di-benzo-furanos), PCB (Policloro-bifenilos) e PCN (Policoloro- nafatalenos).

As dioxinas são contaminantes gerados não intencionalmente por actividades das indústrias químicas de síntese de pesticidas e herbicidas, de lixívia, de pasta de papel, de plásticos, especialmente o PVC, de solventes, tintas e conservantes da madeira (pentaclorofenol-PCP) e também são lançadas para a atmosfera na sequência da incineração de resíduos urbanos e industriais e de lixos domésticos, de fogos florestais e de fundições. As dioxinas podem por isso ser facilmente encontradas nos solos, na vegetação, na cadeia alimentar, no organismo dos animais e do Homem (U.S. EPA, 1994; Comissão das Comunidades Europeias, 2001b).

Os PCB, ao contrário das dioxinas, são substâncias químicas produzidas intencionalmente, que foram fabricadas durante décadas até ter sido aprovada, em 1985, a proibição da sua comercialização e uso devido à toxicidade na reprodução e efeitos bioacumulativos. A maior parte destes produtos, caracterizados por uma elevada persistência na gordura do biota, encontra-se nos solos, sedimentos e em todo o meio aquático (“poluição histórica”). São dois os tipos de uso dos PCB (European Commission, 2000a; Comissão das Comunidades Europeias, 2001b):

1. Usos fechados: fluidos dieléctricos (isolantes) em equipamento eléctrico e fluidos hidráulicos. Neste caso, a maior parte das emissões provém de fugas, incêndios, acidentes, descargas ilegais e eliminações irregulares.
2. Usos abertos: como aditivos de pesticidas, retardadores de chama, vedantes, tintas, etc. Neste caso, as principais fontes emissoras são a deposição em aterro, a migração e as emissões para a atmosfera provenientes da evaporação. Outras fontes menos relevantes são a incineração de resíduos, a utilização agrícola de lamas de depuração, a combustão de óleos usados, bem como reservatórios de PCB, tais como sedimentos marinhos e fluviais e lamas dos portos.

A sua utilização ficou a dever-se precisamente às suas potencialidades técnicas intrínsecas, como isolantes. O valor industrial dos PCBs resulta da sua estabilidade química, resistência ao calor, baixa pressão de vapor, elevada constante dieléctrica e baixa toxicidade aguda. Estas propriedades tornam estes compostos particularmente úteis para as utilizações acima descritas, pelo que foram produzidos em larga escala. Apesar de actualmente já não serem produzidos, senão em condições especiais, a sua eliminação natural vai demorar alguns anos porque, têm semi-vidas muito longas e porque ainda são utilizados, e nalguns casos, depositados em “lixeiros” ou aterros ou simplesmente abandonados, continuando assim a contaminar o meio ambiente (U.S. EPA, 2005).

A estabilidade química dos PCBs e o facto de serem compostos lipofílicos faz com que persistam no ambiente e se associem com os compostos orgânicos do solo, dos sedimentos marinhos e dos tecidos biológicos, onde se podem acumular e entrar na cadeia alimentar. São

distribuídos no ambiente e transportados na atmosfera, sendo detectados em tecidos lipídicos de animais e humanos de áreas remotas (Eurochlor, 2002).

A empresa americana “Monsanto Corporation” em 1929 iniciou a produção e venda de PCBs para serem usados como isolantes, extremamente eficazes em transformadores e acumuladores eléctricos, ou como fluidos hidráulicos e para acabamentos de metais. São ainda encontrados em cabos eléctricos e em componentes de automóveis. Só em 1976 o Congresso dos EUA banuiu a produção de PCB. Até essa altura, a Monsanto Corporation já tinha vendido 1,2 milhões de toneladas de PCBs, entretanto dispersos e em locais desconhecidos. Sessenta e cinco por cento deles ainda são usados em equipamentos eléctricos que se encontram profundamente envelhecidos, cerca de 20% deles já foram lançados aos oceanos, cerca de 11% estão incorporados nos solos e 4% foram incinerados ou talvez degradados (U.S. EPA, 2005).

Existem várias fontes naturais de produção de dioxinas. Por exemplo, antes da produção e utilização de compostos clorados em larga escala, foram identificadas dioxinas na natureza, principalmente em solos florestais. A análise do perfil dos diferentes congéneres nas contaminações encontradas e a sua comparação com os perfis das contaminações com fontes conhecidas, revela que essas contaminações não podem ser explicadas pela introdução dos compostos produzidos pelo Homem e assim, confirma a formação biológica destes compostos (Rappe, 2003; Otles e Yildiz, 2003).

Estudos nos sedimentos de lagos perto de grandes zonas industriais nos EUA mostraram um histórico de deposições de dioxinas e furanos. As deposições eram bastante baixas até 1920; vieram a ter um pico por volta de 1980. Estimando a U.S. EPA que entre 1985 e 1995 as emissões para o ambiente decresceram cerca de 75% (U.S. EPA, 1994). Estes estudos podem sugerir que a deposição de compostos similares das dioxinas no ambiente ocorreram primariamente como resultado da actividade industrial.

As principais fontes de contaminação do ambiente com dioxinas e furanos (PCDD/Fs) foram agrupadas em cinco grandes grupos pela USEPA (U.S. EPA, 2005):

- a) Combustão – Os PCDDs/PCDFs são formados na maioria dos processos de combustão, onde se incluem a incineração de resíduos (como resíduos sólidos urbanos, de lamas, resíduos hospitalares e resíduos perigosos), a queima de vários combustíveis (como carvão, madeira e derivados do petróleo), outras fontes de altas temperaturas (como cimenteiras) e combustões pouco ou nada controladas (como os fogos florestais, incêndios de edifícios e a queima de lixo a céu aberto).
- b) Fundições de metais, refinarias – Os PCDDs/PCDFs podem ser formados durante vários tipos de operações primárias ou secundárias com metais, incluindo a fundição de ferro, a produção de aço e a recuperação de aparas de ferro.

- c) Indústria química - Os PCDDs/PCDFs podem ser formados como subprodutos da produção de pasta do papel, de fenóis clorados (como o pentaclorofenol), PCBs, herbicidas fenólicos e compostos alifáticos clorados.
- d) Processos biológicos e fotoquímicos – Estudos recentes sugerem que os PCDDs/PCDFs podem ser formados, sob certas condições ambientais, como a compostagem, pela acção de microrganismos sobre compostos fenólicos clorados. Também está relatada a formação durante a fotólise de compostos fenólicos altamente clorados.
- e) Reservatórios ou depósitos – São materiais ou locais que contêm PCDDs/PCDFs ou PCBs anteriormente formados a partir dos quais pode ser possível a redistribuição e a circulação no ambiente. Nesta classe incluem-se os solos, sedimentos, biota, água, alguns materiais antropogénicos. Os reservatórios tornam-se fontes a partir do momento em que começam a libertar para o ambiente.

Estão descritas três hipóteses que procuram justificar a biossíntese de dioxinas e furanos durante as combustões e respectiva emissão através dos efluentes gasosos das incineradoras de resíduos (Fiedler, *et al.*, 2000):

- Os PCDD/PCDFs podem já estar presentes nos resíduos. Na Alemanha foram efectuadas medições que apontam para uma concentração média de 50 ng TEQ/kg de resíduo, que são incompletamente destruídos ou transformados durante a combustão. Esta fonte não é relevante nas incineradoras mais modernas.
- Os PCDD/PCDFs podem ser produzidos a partir de precursores clorados similares (pré-dioxinas) tais como PCBs, fenóis clorados e benzenos clorados.
- Os PCDD/PCDFs podem ser formados de novo durante o processo pela pirólise de compostos químicos não similares, como o PVC ou outros carbonos clorados e/ou pela combustão de matéria orgânica não clorada como o poliestireno, celulose, lenhina, carvão e partículas de carbono na presença de dadores de cloro.

Os PCDD/PCDFs são formados durante a combustão incompleta de matéria orgânica na presença de cloro. Durante a incineração, os PCDD/Fs e outros compostos policlorados como benzeno, fenol, naftaleno e bifenil, formam-se a partir do carbono que existe nas cinzas durante o arrefecimento dos gases de saída e está dependente de vários factores como a morfologia do carbono, a existência de iões catalizadores (Cu^{2+} , Fe^{3+} , Pb^{2+} e Zn^{2+}), a concentração de oxigénio e a temperatura. A máxima formação de PCDD/Fs ocorre entre os 300° e os 325° C, sendo a formação de PCDD/Fs abaixo dos 250° C e acima dos 450° C negligenciável (Environment Austrália, 1999; Meyer, *et al.*, 2004). A incineração de resíduos sólidos urbanos e hospitalares é identificada como uma das actividades que libertam maiores quantidades de dioxinas devido ao

facto da combustão efectuada nessas incineradoras ser incompleta, e ainda pelo facto de existirem grandes quantidades de plástico PVC (policlorovinilos), que são a maior fonte de cloro nestas incineradoras (Otles e Yildiz, 2003).

Outras fontes de dioxinas resultantes da combustão são, como já se referiu, os fornos das cimenteiras, as incineradoras de resíduos perigosos, fundições de metais, combustão de madeira e veículos movidos a gasolina com chumbo (Otles e Yildiz, 2003; Todd, 2003).

As dioxinas e os compostos similares podem igualmente ser formados como subprodutos da indústria química como por exemplo da lixívia e de outros compostos clorados como o pentaclorofenol, PCBs, herbicidas fenólicos (ex, ácido 2,4,5 Tricloro-fenoxiacético), benzenos clorados, compostos alifáticos clorados, catalizadores clorados e éteres difenil halogenados. Apesar da produção de produtos intermédios dos fenóis clorados, bem como de PCBs ter terminado por volta dos anos 70 nos EUA e na Europa, a produção continuou a ocorrer noutros pontos do globo até cerca dos anos 90, e continua a ser permitida para casos especiais e utilizações limitadas e eliminações controladas, podendo continuar a ser uma fonte de emissão de PCDD/Fs e PCBs para o ambiente (U.S. EPA, 2005).

Entre estas substâncias tóxicas persistentes bioacumuláveis, tem que ser dada especial atenção aos compostos fenólicos utilizados como pesticidas porque estes produtos apresentam um grande risco para o ambiente e para as pessoas. Vários países ainda não encontraram uma solução de armazenagem segura para estes pesticidas e, por vezes, detêm pouca informação no que respeita às quantidades existentes e mesmo alguns Estados Membros não dispõem de incineradoras de resíduos perigosos destinadas à eliminação destes produtos. Por exemplo, na Europa, a Polónia tem conhecimento da existência de cerca de 60000 toneladas de pesticidas nestas condições (cerca de 10000 em aterros, 25000 em armazéns e 25000 em propriedades privadas). A Bulgária, em 1996, detinha cerca de 35 ton. A Croácia, em 1997, importou mais de 503 ton de pesticidas com tóxicos persistentes bioacumuláveis. A Estónia também tem um historial de importação destes produtos. A situação é provavelmente semelhante em outros EM, os quais devem ser identificados como regiões de risco. Em alguns destes países conseguiu diminuir-se a concentração destes pesticidas poluentes no ambiente, o que não aconteceu na Albânia e na Roménia, onde continuam a encontrar-se concentrações relativamente elevadas de DDT e outros pesticidas clorados, na água e em sedimentos. Na Eslováquia os valores encontrados mostram que há uma alta exposição ao hexaclorobenzeno a partir de uma fonte desconhecida, que resulta numa alta concentração deste composto nos tecidos humanos. Outros países já proíbem a utilização deste tipo de pesticidas clorados. A Hungria foi o primeiro país do mundo a proibir em 1966 a utilização de pesticidas clorados. A República Checa proibiu em 1974 e a Eslováquia em 1976. Alguns países Africanos, Asiáticos e da América do Sul, continuam a usar estes produtos como pesticidas baratos e eficientes (Holoubek, *et al.*, 2001).

A formação de PCDD/Fs resultante da utilização de cloro no processo de branqueamento da pasta de papel traduziu-se na presença de PCDD/Fs no papel e nas águas residuais e nos resíduos sólidos daquela indústria. As lamas das ETAR Municipais também apresentam ocasionalmente PCDD/Fs (U.S. EPA, 2005).

A natureza persistente e hidrofóbica destes compostos faz com que se acumulem no solo, nos sedimentos, na matéria orgânica e nos locais de depósito de resíduos. Estes compostos podem ser difundidos a partir destes locais por vários processos, como por exemplo através de poeiras, da re-suspensão dos sedimentos, do transporte e podem dispersar-se naturalmente por volatilização dos sedimentos. A deposição e acumulação nas folhas das plantas podem resultar em emissões, nomeadamente durante os fogos florestais ou no decorrer de operações de compostagem, dessas matérias vegetais (Watterson, *et al.*, 1999; U.S. EPA 2005).

A U.S. EPA estima que a redução das emissões a partir das fontes identificadas foi responsável pela diminuição dos níveis de PCDD/Fs no ambiente nas últimas décadas. Essas reduções foram impostas por via legislativa no que respeita às emissões causadas pelas incineradoras de resíduos municipais e hospitalares, pela mudança da quantidade de chumbo nos combustíveis dos automóveis, na alteração dos processos utilizados nas fábricas de pasta de papel e pela redução no fabrico de compostos fenólicos clorados como o pentaclorofenol e ainda a proibição de utilização de pesticidas como o 2,4,5, -T (Ácido 2,4,5 – Triclorofenoxiacético, o agente laranja, referido anteriormente).

Actualmente as maiores preocupações transferem-se para a combustão sem controlo de lixo domésticos e das lareiras domésticas, que se presume virem a ser a maior fonte de emissão de dioxinas para o ambiente, havendo já estudos dinamarqueses e suecos sobre esta forma de contaminação do ambiente (Lonnermark *et al.* 2008). A quantidade das emissões gasosas de PCDD/Fs durante este processo de combustão e nas cinzas pode ser reduzida de acordo com a temperatura da combustão, da utilização de inibidores, as condições da combustão e da remoção das cinzas, bem como com a utilização de madeira não contaminada com tinta ou pentaclorofenol (Todd, 2003; Lavric, 2004). A preocupação com os depósitos de resíduos perigosos tende igualmente a tomar um maior destaque nas preocupações ambientais (Todd, 2003).

Estudos recentes de PCDD/Fs nas emissões gasosas em vários Estados Membros da UE, medidos em equivalentes tóxicos totais, tendo em conta os factores de equivalência tóxica (TEF) internacionais para os PCDD/Fs, assumem que a maior fonte da contaminação por dioxinas decorre das emissões gasosas, calculando que variam aproximadamente entre 100-1000 g TEQ/ano na Alemanha Ocidental, 100-200 g TEQ/ano na Suécia, até 1000 e até 4000 g TEQ/ano na Holanda e no Reino Unido, respectivamente. Estudos similares sobre as emissões gasosas de dioxinas nos EUA fazem uma estimativa central de 9300 g TEQ/ano que pode variar entre 3300 e 26000 g TEQ/ano (USEPA, 1994).

1.4. Perfil dos congêneres em diferentes fontes de PCDDs/PCDFs

O perfil apresenta a quantidade relativa de cada congênere dos PCDDs/PCDFs numa determinada amostra.

Os perfis podem ser úteis para identificar as fontes que contribuíram para uma determinada contaminação de PCDDs/PCDFs, para comparar diferentes fontes de contaminação e para prever as quantidades de cada congênere de um processo de formação de PCDDs/PCDFs (USEPA, 2005). Há vários estudos que classificam e tipificam o perfil das diferentes fontes de contaminação mais estudadas (Cleverly, *et al.*, 1997; Muto e Sugawara, 2001; Gullett e Touati 2003; USEPA, 2005).

Para efeitos de inspeção e comparação do perfil das médias dos diferentes congêneres de PCDDs/PCDFs podemos fazer algumas observações, quanto aos dados que se apresentam nesses estudos, tendo em atenção que os perfis dos congêneres podem alterar-se, num determinado processo, em virtude dos diferentes sistemas de controlo da poluição atmosférica utilizados nos processos de combustão industrial (USEPA, 2005):

- É comum, as emissões resultantes da combustão revelarem a existência de todos os congêneres PCDD/PCDF com cloro nas posições 2,3,7,8, embora com percentagens relativas diferentes no total dos PCDD/PCDF;
- Nas emissões resultantes da combustão, o congênere 2,3,7,8-TCDD representa geralmente 0,1 a 1% dos totais dos PCDD/PCDF. A exceção, são as emissões da combustão de gordura em caldeira, onde os dados disponíveis indicam que o congênere 2,3,7,8-TCDD representa geralmente 7% dos totais dos PCDD/PCDF;
- Não se pode concluir que o congênere octacloro-dibenzodioxina (OCDD), seja o congênere dominante para todas as emissões provocadas pela combustão. O OCDD domina nas emissões provocadas por combustão de massa, combustão de gordura em caldeira, combustão industrial de madeira, combustão de gasolina sem chumbo, combustão de diesel em camiões e incineradoras de lamas. Os congêneres dominantes para outras fontes de combustão são o 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF nas combustões de massa, de incineração de resíduos perigosos e fundição secundária de alumínio, o OCDF nas emissões de incineração de resíduos hospitalares e nas caldeiras a carvão, o congênere 2,3,4,7,8-PeCDF nas cimenteiras que queimam resíduos perigosos e o congênere 2,3,7,8-TCDF nas cimenteiras que não queimam resíduos perigosos.
- Há uma marcada diferença na distribuição dos congêneres PCDDs/PCDFs entre as cimenteiras que queimam resíduos perigosos e as que não queimam. Quando não

queimam resíduos perigosos como suplemento para a combustão, os congêneres dominantes são os 2,3,7,8-TCDF; OCDD; 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD e OCDF. Quando queimam resíduos perigosos os congêneres dominantes são os 1,2,3,7,8-PeCDF; 2,3,7,8-TCDF; 1,2,3,4,7,8-HxCDF e 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD

Há semelhanças no perfil dos congêneres de penta-clorofenol (PCP) e as emissões gasosas dos escapes dos caminhões a diesel, emissões dos veículos a gasolina sem chumbo e as emissões da combustão industrial de madeira. Nestas fontes, os compostos mais clorados como os octa e os hepta-CDD/ CDF dominam as emissões totais e os PCDDs têm maior peso total que os PCDFs (Wunderli *et al.*, 2000; Muto e Sugawara, 2001).

Após a ingestão de aparas de madeira contaminadas com PCP as aves e bovinos apresentam contaminações no músculo em que os congêneres octa e hepta CDD são os dominantes. No entanto, na espécie bovina, ao contrário do que se passa nas aves, os congêneres 1,2,3,6,7,8 hexa CDD e 1,2,3,4,6,7,8 hepta CDF estão diferenciados, apresentando valores ligeiramente aumentados (Fries, *et al.*, 2002; Ryan *et al.*, 1985).

1.5. Toxicidade das dioxinas

A EPA atribui potencial carcinogénico à mistura complexa de congêneres de dioxinas a que os humanos e os animais estão expostos por via alimentar ou aerógena. O congénere tetraclorado, a "2,3,7,8-TCDD" (tetracloro-dibenzeno-para-dioxina) é uma das substâncias mais tóxicas entre as que se conhecem, classificando-o como um agente carcinogénico humano, baseando-se nas evidências de estudos em animais e humanos. Não existindo um limite de segurança, uma vez que é possível induzir cancro em animais de laboratório mesmo com doses muito baixas. As outras dioxinas são classificadas como potenciais carcinogénicos humanos (McGregor, *et al.*, 1998; USEPA, 2004).

As diferentes espécies animais apresentam sensibilidade diferente às dioxinas e o Homem apresenta, em termos comparativos, uma sensibilidade intermédia no espectro dos efeitos verificados na sequência de exposições àqueles compostos (U.S. EPA, 2004).

As dioxinas são eficientemente absorvidas no tracto gastrointestinal e acumulam-se no organismo nos tecidos lipídicos, aumentando o risco com o prolongamento da exposição, ou seja, com a idade (Weiss, 2006).

Para além do potencial carcinogénico estão atribuídos às dioxinas muitos outros efeitos adversos para a saúde humana e dos animais, nomeadamente ao nível do desenvolvimento fetal, percentil de crescimento, atrasos mentais e disrupções endócrinas diversas de maior ou menor gravidade, comprometendo nomeadamente a tiróide e as gónadas (McGregor, *et al.*, 1998).

Dependendo do grau de cloração, 1 a 8 átomos de cloro e da sua posição nos anéis, podem ser formados cerca de 75 PCDDs e cerca de 135 PCDFs designados congêneres. A toxicidade destes varia consideravelmente, tendo especial importância, aqueles em que as posições 2,3,7 e 8 estão ocupadas. Contudo, dos 210 congêneres possíveis, apenas 17 são preocupantes do ponto de vista toxicológico (Assunção, 1999; European Commission, 2000a; Bryant, 2001; Weiss, 2006).

Os PCB pertencem ao grupo de hidrocarbonetos clorados que são sintetizados pela cloração directa do bifenil. Dependendo do número de átomos de cloro, que podem ser de 1 a 10 e à sua posição nos dois anéis, é teoricamente possível a existência de 209 compostos diferentes, ou congêneres, mas destes apenas 12 têm uma acção toxicológica semelhante à das dioxinas (European Commission, 2000b).

Do ponto de vista toxicológico, os PCB podem ser divididos em três grupos. Os não-ortho e os mono-ortho apresentam maiores propriedades toxicológicas, semelhantes às das dioxinas e os PCB di-ortho são menos tóxicos e têm propriedades toxicológicas diferentes (European Commission, 2000b). Nos PCBs que não tenham qualquer átomo de cloro na posição ortho (figura 4) os dois anéis fenis assumem uma posição co-planar e assim têm propriedades semelhantes às das dioxinas. Aos PCBs não-ortho e mono-ortho foram atribuídos valores TEF (Weiss, 2006).

Há que ter em conta que, apesar de as dioxinas serem mais tóxicas do que os PCB, as quantidades de PCB libertados para o ambiente são várias vezes superiores (European Commission, 2000a).

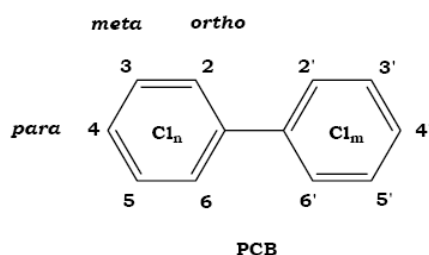


Figura 4 – Estrutura molecular dos PCBs e posições de ligação dos átomos de cloro (Weiss, 2006)

1.5.1. Factores de Equivalência de Toxicidade e Concentração Tóxica Equivalente

Cada composto da família das dioxinas ou dos PCB sob a forma de dioxina apresenta um nível diferente de toxicidade. Para possibilitar a avaliação do conjunto das toxicidades destes diferentes compostos afins, introduziu-se o conceito de factores de equivalência de toxicidade

(TEF) de forma a facilitar a avaliação dos riscos bem como o controlo regulamentar. Os valores TEF são valores teóricos e ferramentas administrativas, baseadas nos conhecimentos actuais que devem ser revistos à medida que novos dados sejam conhecidos (Fiedler, *et al.*, 2000).

Significa pois que o resultado analítico relativo aos 17 compostos afins de dioxinas e aos 12 de PCB sob a forma de dioxina se exprime em termos de uma única unidade quantificável: “concentração tóxica equivalente de TCDD” (TEQ) (Weiss, 2006).

Esta conversão é baseada na assumpção de que todos os congéneres de dioxina apresentam o mesmo efeito qualitativo, porque se ligam ao mesmo receptor de dioxina nas células, mas com intensidades diferentes. A diferente intensidade é expressa pelos TEF e estimada pela relação entre a menor toxicidade do respectivo congénere e a toxicidade do 2,3,7,8-TCDD que assume o valor TEF teórico de 1. Mais, é assumido que os efeitos tóxicos não são sinérgicos ou antagónicos, mas aditivos (European Commission, 2000b).

Têm sido desenvolvidos diferentes modelos de TEF. A nível internacional, os valores TEF mais utilizados são os que foram propostos pela NATO/CCMS em 1988 e a revisão dos valores TEF para mamíferos e proposta de novos valores para aves e peixes pela Organização Mundial de Saúde (WHO) em 1998. De acordo com o modelo utilizado, os valores TEQ são expressos respectivamente em I-TEQ (NATO/CCMS) ou WHO-TEQ (WHO) (European Commission, 2000b; Fiedler, *et al.*, 2000; Huwe, 2002).

A avaliação da toxicidade dos diferentes compostos a que pertencem estes três grupos de substâncias (PCDD, PCDF e PCB) e respectivos congéneres são determinados por comparação com a toxicidade da 2,3,7,8-TCDD, também chamada dioxina “Seveso” e expressam-se nas unidades especiais de equivalência tóxica (Tabela 1) (Jensen, 2003; Rappe, 2003).

Nos conceitos toxicológicos, o congénere de maior toxicidade, 2,3,7,8-TCDD, é designado por “dioxina de factor de equivalência tóxica” (TEF) = 1,0 (Luscombe, 1999).

Aos outros congéneres são atribuídos valores de equivalência tóxica (TEF), classificados em relação à toxicidade de 2,3,7,8-TCDD. Para determinar o valor de TEQ num alimento ou na atmosfera, a concentração de cada congénere é multiplicada pelo seu factor TEF. A equivalente de toxicidade total (TEQ total) para uma mistura de PCDD/Fs e PCB pode então ser estabelecida através da soma dos valores individuais do conjunto dos congéneres (Luscombe, 1999).

Tabela 1- - Factores de Equivalência Tóxica (TEF) > 0 para os PCDD/Fs e PCBs

Compostos		WHO- TEF
<u>PCDD</u>		
2,3,7,8-TCDD		1
1,2,3,7,8-PeCDD		1
1,2,3,4,7,8-HxCDD		0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDD		0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDD		0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD		0.01
OCDD		0.0001
<u>PCDF</u>		
2,3,7,8-TCDF		0.1
1,2,3,7,8-PeCDF		0.05
2,3,4,7,8-PeCDF		0.5
1,2,3,4,7,8-HxCDF		0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF		0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF		0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF		0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF		0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF		0.01
OCDF		0.0001
<u>Não-ortho-PCB</u>		
3,3',4,4'-TCB	(77)	0.0001
3,4,4',5-TCB	(81)	0.0001
3,3',4,4',5-PeCB	(126)	0.1
3,3',4,4',5,5'-HxCB	(169)	0.01
<u>Mono-ortho-PCB</u>		
2,3,3',4,4'-PeCB	(105)	0.0001
2,3,4,4',5-PeCB	(114)	0.0005
2,3',4,4',5-PeCB	(118)	0.0001
2',3,4,4',5-PeCB	(123)	0.0001
2,3,3',4,4',5-HxCB	(156)	0.0005
2,3,3',4,4',5'-HxCB	(157)	0.0005
2,3',4,4',5,5'-HxCB	(167)	0.00001
2,3,3',4,4',5,5'-HpCB	(189)	0.0001
Legenda : (...) compostos congéneres que se supõe não terem efeitos idênticos às dioxinas.		

Adaptado de Meyer, *et al.*, 2004

Na revisão de 1998 a WHO estabeleceu modelos TEF mais recomendáveis para utilização com mamíferos e humanos e separadamente desenvolveu modelos para aves e para peixes, por não ser possível a sincronização dos valores TEF entre os mamíferos, aves e peixes e por haver

indicações claras de diferença de magnitude nos valores TEF para alguns compostos nestas três classes. A este respeito é de salientar a ausência ou resposta quase inexistente dos peixes aos mono-ortho-PCBs comparativamente aos mamíferos e às aves. É também importante notar que os TEF dos mamíferos são baseados em dose administrada, enquanto que os TEF dos peixes e das aves são baseados em análise de resíduos (concentração nos tecidos e dose administrada em estudos de injeção em ovos) (Van den Berg, *et al.*, 1998).

Não obstante as incertezas que podem comprometer o conceito TEF quando utilizado para fins de análise de risco, como por exemplo as interações não aditivas, as diferenças na forma da curva dose-resposta e as diferentes respostas das espécies à exposição, a previsão dos valores TEQ de acordo com o modelo TEF continua a ser considerado o mais adequado e o mais praticável para a análise de risco dos compostos com propriedades semelhantes às das Dioxinas (Van den Berg, *et al.*, 1998). Apresenta-se o modelo estabelecido pela OMS na Tabela 2.

Tabela 2 - Factores tóxicos equivalentes para PCDD/PCDFs propostos pela NATO/CCMS (1988) e pela WHO (1998).

COMPOSTOS	I-TEFs (NATO/CCMS)	WHO-TEFs		
		Humanos/ Mamíferos	Peixes	Aves
<u>PCDD</u>				
2,3,7,8-TCDD	1	1	1	1
1,2,3,7,8-PeCDD	0.5	1	1	1
1,2,3,4,7,8-HxCDD	0.1	0.1	0.5	0.05
1,2,3,6,7,8-HxCDD	0.1	0.1	0.01	0.01
1,2,3,7,8,9-HxCDD	0.1	0.1	0.01	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDD	0.01	0.01	0.001	< 0.001
OCDD	0.001	0.0001	< 0.0001	0.0001
<u>PCDF</u>				
2,3,7,8-TCDF	0.1	0.1	0.05	1
1,2,3,7,8-PeCDF	0.05	0.05	0.05	0.1
2,3,4,7,8-PeCDF	0.5	0.5	0.5	1
1,2,3,4,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1	0.1
1,2,3,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1	0.1
1,2,3,7,8,9-HxCDF	0.1	0.1	0.1	0.1
2,3,4,6,7,8-HxCDF	0.1	0.1	0.1	0.1
1,2,3,4,6,7,8-HpCDF	0.01	0.01	0.01	0.01
1,2,3,4,7,8,9-HpCDF	0.01	0.01	0.01	0.01
OCDF	0.001	0.0001	0.0001	0.0001

Adaptado de Canadian Council of Ministers of the Environment, 2002.

Os PCB “não sob a forma de dioxinas” (PCB “clássicos” ou “não coplanares”), têm um perfil toxicológico diferente do das dioxinas, pelo que não são utilizados para a determinação da TEQ. Estes circulam mais facilmente através dos músculos e do sangue, afectam directamente o sistema nervoso e o desenvolvimento cerebral, sendo a sua concentração no biota aquático, designadamente peixes e moluscos, várias ordens de grandeza superior à das dioxinas (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b).

1.5.2. Exposição diária Aceitável

Em 1990, a WHO estimou que mais de 90% da exposição humana ocorre através da dieta e principalmente dos géneros alimentícios de origem animal, uma vez que os animais funcionam como recicladores, conduzindo à acumulação e consequente biomagnificação das dioxinas na cadeia alimentar. Os alimentos de origem animal aprovados para consumo podem ser responsáveis pela ingestão diária de aproximadamente 2 pg TEQ/kg peso vivo/dia. Os outros alimentos, nomeadamente os que têm baixos teores lipídicos têm menor importância em termos de ingestão diária (Fiedler, *et al.*, 2000).

A Organização Mundial de Saúde (WHO), a Agência para as substâncias Tóxicas e Registo de Doenças dos Estados Unidos da América (ATSDR), o Comité de Peritos para os Aditivos Alimentares da WHO (JECFA/WHO) e o Comité Científico dos Géneros Alimentícios da Comissão Europeia (ECSCF) em 1998 publicaram um extenso estudo sobre os efeitos das dioxinas na saúde humana e animal com base em resultados obtidos em modelos animais, recomendaram que a dose diária média de exposição de dioxinas deve ser limitada a valores dentro do intervalo de 1 a 4 pg TEQ/kg de peso corporal, para garantir que os níveis séricos não atinjam valores preocupantes (WHO-ECEH, 1998; Otles e Yildiz, 2003).

Os peritos da WHO, numa reunião que ocorreu em Bilthoven, na Holanda em 1990, tinham recomendado uma exposição diária aceitável (TDI) para dioxinas e furanos de 10 pg TEQ/ Kg peso vivo/dia (Fiedler, *et al.*, 2000). Nesta altura já teria ficado acordada a necessidade de alterar o valor recomendado para 1 a 4 pg TEQ/ kg/ dia, depois de terem sido discutidos os resultados sobre estudos em países industrializados que indicavam que a dose diária máxima de PCDD/Fs era estimada em valores de 50 a 200 pg TEQ/pessoa/dia ou de 1 a 3 pg TEQ/kg peso vivo/dia para um adulto de 60 kg. Se incluirmos os PCBs similares a dioxinas a ingestão total de TEQ pode ser 2 a 3 vezes superior (Fiedler, *et al.*, 2000).

O Comité Científico para a Alimentação Humana (ECSCF) da UE adoptou, em 30 de Maio de 2001, um parecer sobre a avaliação dos riscos de dioxinas e PCB sob a forma de dioxinas na alimentação humana. Foi estabelecida uma exposição semanal aceitável (TWI) para dioxinas e PCB sob a forma de dioxinas de 14 picogramas de equivalentes tóxicos (WHO-TEQ) por quilograma de peso corporal. Esta TWI está em consonância com a dose mensal tolerável de 70

pg/kg de peso corporal por mês estabelecida pelo Comité Misto FAO-WHO de Peritos em Aditivos Alimentares (JECFA) na sua quinquagésima sétima reunião (Roma, 5-14 de Junho de 2001) e corresponde ao limite inferior do intervalo da TDI de 1-4 pg WHO-TEQ/kg de peso corporal, estabelecida pela WHO na sequência da consulta em 1998. Dados recentes e representativos sobre a dose diária indicam que as doses diárias médias de dioxinas e PCB sob a forma de dioxinas na UE se situam entre 1 e 3 picogramas por quilo de peso corporal por dia, o que significa que uma parte considerável da população europeia continuará a exceder a TWI ou a TDI (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b).

Com base no relatório de 2003 do CDC (Center for Disease Control and Prevention), os níveis médios de dioxinas nos lípidos séricos da população rastreada por aquele organismo já estaria abaixo dos limites de detecção das técnicas utilizadas. Com base neste estudo verifica-se que 95% da população monitorizada apresentou níveis séricos de dioxinas abaixo de 16,8 ppt-TEQ. Comparando com estudos anteriores, em que os níveis séricos médios de dioxinas na população americana estudada em 1970 se situavam perto de 80 ppt-TEQ, conclui-se que em 2003, 95% da população americana apresentava níveis séricos de dioxinas quatro vezes inferiores aos níveis encontrados em 1970. Estes dados indicam que o esforço que tem sido efectuado para reduzir as emissões de dioxinas produziu resultados uma vez que se regista uma tendência clara de diminuição dos níveis de dioxinas na população americana (Otles e Yildiz, 2003).

1.5.3. Efeito das dioxinas na saúde

A maior parte da informação disponível sobre o efeito das dioxinas na saúde resulta de resultados obtidos *in vitro* (i.e. cultura de células) ou por via da experimentação animal e de estudos epidemiológicos, contudo os dados disponíveis indicam que existe uma boa correlação entre os efeitos das dioxinas nos animais de laboratório e os descritos em estudos epidemiológicos efectuados em humanos (Heuvel e Lucier, 1993; Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 1998; Grassman *et al.*, 1998).

Têm sido avançadas diversas hipóteses para a explicação da maior parte ou mesmo de todos os efeitos deletérios das dioxinas e compostos congéneres, na saúde.

No organismo dos mamíferos, peixes e aves, as moléculas de dioxina ligam-se a uma proteína celular solúvel específica (AhR). Apesar do mecanismo de acção não ser completamente compreendido, sabe-se que as dioxinas podem produzir alterações na regulação de vários genes (expressão e/ou repressão) alterando a função celular. Desta forma interferem com o normal funcionamento dos órgãos produtores de hormonas e dos mensageiros químicos que interferem no crescimento e na regulação geral do organismo, nomeadamente nos mecanismos de desintoxicação (WHO-ECEH, 1998; Environment Canada, 2003).

Experiências realizadas nos últimos anos estabeleceram que os efeitos mais tóxicos dos PCDD/Fs e alguns PCBs, como toxicidade dérmica, imunotoxicidade, carcinogenicidade e toxicidade reprodutiva e do desenvolvimento, são mediados pelo receptor Ah (Aril hidrocarboneto), presente na maior parte dos tecidos animais e humanos (Okey, 1994; McGregor, *et al.*, 1998; European Comission, 2000b).

Verificou-se desenvolvimento de neurotoxicidade em animais e existem evidências deste efeito em humanos, em estudos epidemiológicos efectuados em crianças expostas *in utero* a PCBs não coplanares.

Os PCBs podem ser agrupados em duas categorias, de acordo com o seu mecanismo de toxicidade. Os PCBs não coplanares têm predominantemente efeitos neurotóxicos. Os PCBs coplanares têm um efeito semelhante às dioxinas e actuam também através do receptor (Ah) e tal como os PCDD/PCDFs, os PCBs coplanares têm um número significativo de efeitos tóxicos mediados pelo receptor Ah (Children's Environmental Health Protection Act, 2001).

O ligando (por exemplo, o TCDD) entra na célula por difusão passiva através da membrana celular e liga-se ao receptor Ah (AhR). A afinidade da ligação depende tanto das características do hospedeiro como das propriedades do ligando. Após a ligação do ligando no citosol celular ao AhR, o complexo TCDD-AhR sofre uma transformação ou activação e move-se para o núcleo onde interage com a proteína Aril hidrocarboneto nucleo-transferase (ARNT) para formar, por fosforilação, um complexo heterodímero ligado a cadeias específicas do DNA, podendo activar a expressão ou repressão de vários genes. A ligação dos compostos semelhantes a Dioxinas ao receptor Ah está correlacionada com a indução dos sistemas enzimáticos oxidativos tais como o citocromo P-450-1A1 e o citocromo P-450-1A2. Estas enzimas pertencem a uma família de 12 isoenzimas citocromo P-450 (grupo de enzimas quimicamente distintas mas funcionalmente semelhantes) que se encontram principalmente no retículo endoplasmático dos hepatócitos (Heuvel e Lucier, 1993; Swanson e Bradfield, 1993; Safa, 1998; Sahlberg, *et al.* 2002).

As enzimas citocromo P-450 são fundamentais para a síntese de esteróides e actuam no metabolismo de outros compostos endógenos. Algumas destas enzimas estão envolvidas nos processos de bio-transformação, conjugação e remoção ou bio-activação de xenobióticos. A indução das enzimas é uma resposta bioquímica à exposição aos PCDD/PCDFs, contudo a actividade da enzima não garante que uma resposta tóxica esteja eminente nem tem necessariamente qualquer conexão com uma expressão tóxica (Environment Canada, 2003).

Segundo a EPA, de acordo com os dados científicos disponíveis, a interacção das dioxinas com o receptor Ah é imprescindível para que ocorra expressão de um efeito adverso, estando as diferentes respostas dos organismos da mesma espécie e de espécies diferentes relacionadas

com essa ligação ao receptor Ah (U.S. EPA, 2004). Por exemplo, esta ligação ao receptor Ah pode explicar o facto de a dose letal de 2,3,7,8-TCDD ser 5000 vezes menor para o cobaio que para o hamster, a espécie menos sensível que se conhece (Heuvel e Lucier, 1993; Fiedler, *et al.*, 2000).

Diferentes congéneres das dioxinas ligam-se ao receptor Ah com força diferente dando origem a uma variação na toxicidade. Embora haja evidência de que o funcionamento do receptor Ah esteja envolvido em muitos dos diferentes efeitos causados pela dioxina, podem existir efeitos do TCDD que não são mediados por este receptor. Por exemplo, o 2,3,7,8-TCDD induz apoptose em culturas de duas linhagens de células T linfoblásticas leucémicas humanas. No entanto, verificou-se que a morte destas células não era dependente do receptor Ah (Hossain, 1998).

As evidências sugerem que os PCDD/PCDFs podem contaminar os seres vivos de várias formas. Estudos referem que a absorção via oral pode ser superior a 50%, no entanto um estudo em humanos aponta para uma absorção muito aproximada dos 90% e outros estudos apontam para a inexistência de diferenças significativas inter espécie no que respeita à absorção gastrointestinal destes compostos em mamíferos (Muller, 2002).

A absorção dérmica dos PCDD/PCDFs é muito lenta e está dependente da dose e a maior parte da quantidade administrada fica retida na camada do estrato córneo da pele. Estima-se que a percentagem de absorção dérmica varie entre os 10% e os 40%, tendendo a quantidade absoluta a aumentar e a percentagem de absorção a diminuir com o aumento da dose. (Muller, 2002)

Estudos com roedores sugerem que a absorção transpulmonar de PCDD/PCDFs é quase total (Muller, 2002).

Está também descrita a exposição dos fetos, por via tranplacentária, a compostos semelhantes a dioxinas presentes no sangue materno. Adicionalmente, pode ainda referir-se que a maior fonte de exposição no período pós-natal é através da ingestão do leite materno (Muller, 2002).

Após a absorção gastrointestinal os PCDD/PCDFs são distribuídos pelo sistema linfático. Quando entram na circulação sanguínea estes compostos são inicialmente encontrados nos tecidos bem irrigados, mas, em poucas horas, as concentrações mais altas são encontradas no fígado e no tecido adiposo. A distribuição dos PCBs coplanares é semelhante à dos PCDD/PCDFs. O tempo de semi-vida para a eliminação dos vários tecidos é de horas a semanas em roedores, mas num estudo em macacos Rhesus o tempo de semi-vida para a eliminação do tecido adiposo foi de cerca de um ano. Em humanos o tempo de semi-vida para a eliminação do tecido adiposo e/ou sangue é de anos (Muller, 2002).

Os PCDD/PCDFs são eliminados em maior quantidade na urina do que nas fezes e a maior parte são metabolitos dos compostos administrados (Muller, 2002).

Os efeitos adversos das dioxinas estão bem estabelecidos em estudos com modelos de experimentação animal e populações humanas altamente expostas (Grassman, *et al.*, 1998).

O motivo pelo qual os modelos animais são relevantes para avaliar e prever a resposta humana são os seguintes (Grassman *et al.*, 1998):

- As respostas imunológicas, de desenvolvimento, reprodutivas, bem como as respostas carcinogénicas às dioxinas observadas em seres humanos também ocorrem em modelos animais;
- A preponderância dos efeitos bioquímicos induzidos pelas dioxinas, tanto em animais como em seres humanos, são mediados pelo receptor Ah;
- Os esquemas de dosagem em animais podem ser variados para que se possa examinar a margem de exposições encontrada nas populações humanas;
- As quantificações das doses baseadas na dose interna (dose nos tecidos e carga corporal) podem ser usadas para comparar respostas entre as espécies, uma vez que estes parâmetros consideram as diferenças entre as espécies quanto às taxas de depuração;
- As respostas bioquímicas às dioxinas em modelos animais mostram similaridade quantitativa e qualitativa àquelas observadas em seres humanos;

Uma exposição ocasional a concentrações altas de dioxinas (toxicidade aguda) pode conduzir ao aparecimento de perturbações da função hepática, perda de peso e lesões cutâneas típicas, conhecidas por “cloracne”, reversível mas frequentemente desfigurantes, caracterizadas por erupções acniformes e de manchas escuras na pele devido a hiperqueratose cutânea e hiperplasia (Luscombe, 1999; Charnley e Kimbrough, 2005).

Uma exposição mais prolongada induz o cancro (figura 6) e conduz à debilidade do sistema imunitário, alterações dos sistemas nervoso e endócrino, da função reprodutiva (figura 5) e do desenvolvimento físico e mental (Luscombe, 1999).

Os efeitos das dioxinas na saúde humana são, portanto, muito diversificados e podem ser muito variáveis entre os indivíduos da mesma espécie, sugerindo a existência de diferenças genéticas que produzem, uma resposta diferente das células às dioxinas (Heuvel e Lucier, 1993; Otles e Yildiz, 2003).

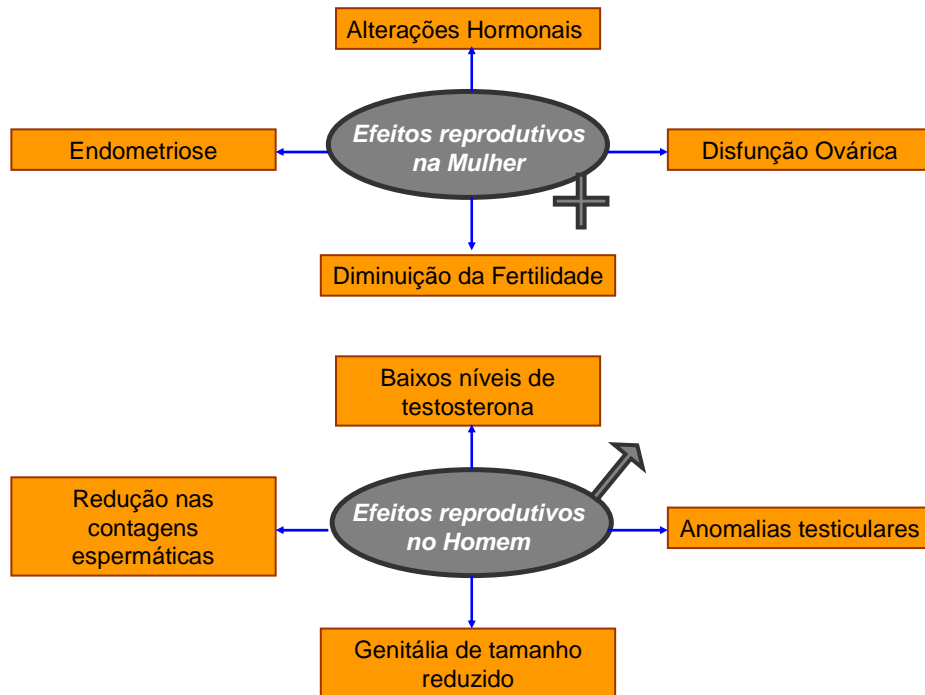


Figura 5 - Efeitos das dioxinas na saúde humana (adapt. de Otles e Yildiz, 2003)

Estudos na Europa e nos EUA mostram que a exposição perinatal permanente às dioxinas e aos PCB têm efeitos no desenvolvimento do cérebro e do metabolismo da hormona tiróide, provocando interferência no coeficiente de inteligência e alterações comportamentais e de desenvolvimento intelectual e sexual; no fígado surgem alterações nos níveis de enzimas hepáticas; na medula óssea ocorre interferência na hematopoiese, no timo pode aparecer involução precoce, podendo a função pulmonar ser também afectada. Um efeito também descrito é a alteração da relação entre as taxas de nascimento de indivíduos do sexo masculino e feminino, com um claro aumento da descendência feminina. Este fenómeno foi verificado após o acidente de Seveso e nos acidentes de Yusho e Yucheng em que, no primeiro caso a taxa verificada foi de 0,31 (328 rapazes e 346 raparigas nasceram entre 1977 e 1996 de pais potencialmente expostos) quando o normal é de 0,51, ou seja, 106/100 (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2000; Fiedler, *et al.*, 2000; Mocarelli, *et al.* 2000; Okubo, *et al.*, 2000; Children's Environmental Health Protection Act, 2001; Yoshimura, *et al.*, 2001).

Foram também estudados 71 homens que na altura acidente de Seveso em Itália teriam cerca de seis anos e que ao fim de cerca de trinta anos dessa exposição apresentaram diminuição do número e da motilidade dos espermatozoides (Mocarelli *et al.*, 2008).

Outros efeitos para a saúde foram descritos na sequência da exposição acidental de trabalhadores fabris a grandes concentrações de dioxinas. Nesses indivíduos ocorre cloracne e regista-se um pequeno aumento da incidência de cancro (figura 6).

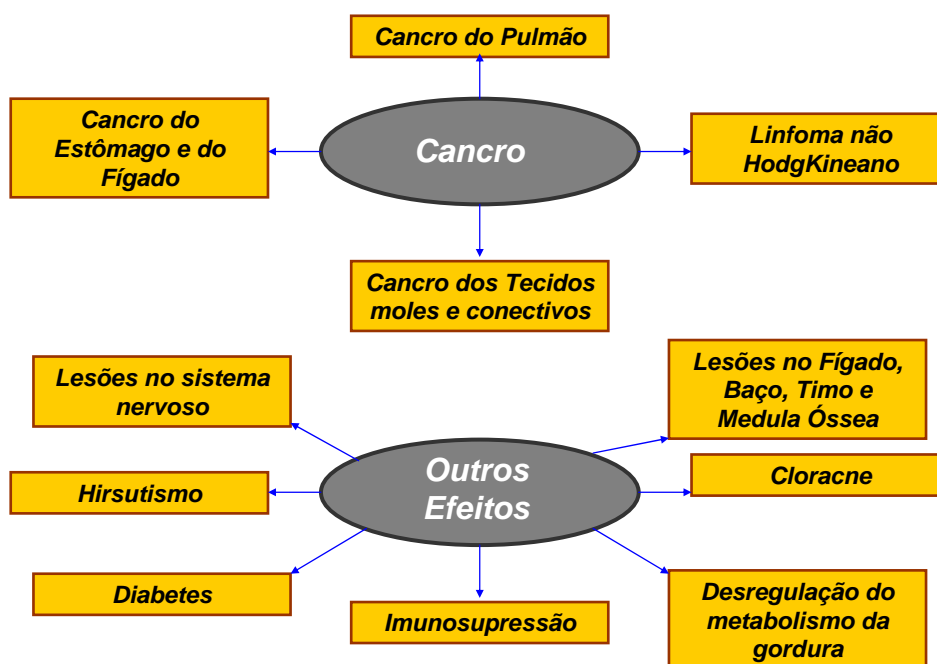


Figura 6 – Efeitos das dioxinas na saúde humana (adapt. de Otles e Yildiz, 2003)

A exposição crónica de animais às dioxinas induziu o aparecimento de diversos tipo de cancro, no entanto, a Agencia Internacional para a Investigação do Cancro (IARC) que classificou a TCDD como carcinogénico humano, avaliou a tetra-cloro-dibenzodioxina e concluiu que este composto não afectava o material genético e que havia um limite de exposição, abaixo do qual o risco de cancro pode ser negligenciável (McGregor *et al.*, 1998).

Estudos epidemiológicos com indivíduos sujeitos a uma elevada exposição em determinadas indústrias na Alemanha, na Holanda e nos EUA, concluíram que há um aumento na taxa de mortalidade por cancro (Fiedler, *et al.*, 2000).

Nestes grupos expostos aos mesmos factores de risco, as concentrações médias de 2,3,7,8-TCDD nos lípidos sanguíneos era da ordem dos 2 000 ng /kg (com máximos de 32 000 ng/kg) no grupo dos EUA. A média das concentrações nos trabalhadores afectados no grupo holandês era de 1 434 ng /kg (com variações de 301- 3 683 ng/kg). Valores médios da ordem dos 1 008 ng /kg foram detectados em trabalhadores com cloracne severo no acidente da BASF na Alemanha e concentrações da ordem dos 2252 ng /kg foram detectados no grupo de trabalhadores alemães da Boehringer (Fiedler, *et al.*, 2000).

Estas concentrações de 2,3,7,8-TCDD encontradas no sangue dos trabalhadores após a exposição são equiparáveis aos encontrados no sangue de ratos de 2 anos sujeitos a um estudo de carcinogenicidade. Nos ratos expostos a 100 ng de 2,3,7,8-TCDD /kg peso vivo/ dia foram observados carcinomas hepatocelulares e carcinomas das células escamosas do pulmão. As concentrações de 2,3,7,8-TCDD encontradas no sangue desses ratos eram da ordem de 5 000-

10 000 ng/kg. Estes estudos revelam que existe paralelismo na resposta carcinogénica à exposição a 2,3,7,8-TCDD, em humanos e em ratos (Fiedler, *et al.*, 2000).

Atendendo aos resultados acima mencionados pode-se inferir que uma exposição residual a 2,3,7,8-TCDD da ordem dos 2-3 ng/kg, à qual as populações humanas estão expostas actualmente, são 100 a 1000 vezes inferiores às doses indutoras registadas no estudo de carcinogenicidade efectuado nos ratos (Fiedler, *et al.*, 2000).

Existe, contudo, uma certa discordância relativamente à linearidade da correlação entre o limite de exposição e a manifestação de processos cancerígenos. A opinião da USEPA assenta na linearidade da correlação e assim, da inexistência de um limite a partir do qual se possa extrapolar que existe risco potencial de manifestação de cancro. O ECSCF e o JECFA concluíram que na exposição às dioxinas, o cancro é um fenómeno extremo. Concluíram, nomeadamente no que respeita ao 2, 3, 7, 8-tetra-cloro-dibenzodioxina, que este não é um factor iniciador da carcinogénese e que havia um limiar tolerável de exposição àquele composto, para todos os efeitos, incluindo o cancro, e ainda, que a carcinogenicidade do composto não estaria ligada à mutagenicidade ou ao seu efeito sobre as ligações ao DNA, mas antes à imunossupressão (Ottles e Yildiz, 2003).

Um dos aspectos mais preocupantes da toxicidade da dioxina é, claramente, a extrema sensibilidade do feto e da criança em desenvolvimento. Os efeitos neurológicos e comportamentais podem persistir durante a idade escolar (Children's Environmental Health Protection Act, 2001).

Enquanto a OMS enfatiza que a meta final para exposição humana deve ser inferior a 1 pg/kg/dia, com base na exposição do período de uma vida, ainda permanece uma preocupação considerável sobre os níveis de exposição dos jovens. Isto é especialmente preocupante e está de acordo com as evidências laboratoriais disponíveis, demonstrando efeitos que duram por toda uma vida, resultantes de doses baixas únicas em determinados momentos críticos como por exemplo durante a gestação (Luscombe, 1999).

Os efeitos tóxicos noutras espécies apresentam diferenças substanciais, sendo que os mecanismos toxicológicos ainda não estão bem elucidados (Eisler, 1986; Eisler, 2000) e pouco estudadas, pelo que as referências bibliográficas encontradas foram escassas:

- **Organismos invertebrados:** Estudos em duas espécies de minhocas mostraram que estas não expressam efeitos adversos ao fim de 85 dias expostos a meios altamente contaminados com 5 mg/Kg de 2,3,7,8-TCDD, mas ambas as espécies morriam em meios com 10 mg/Kg de 2,3,7,8-TCDD. Em meios que continham concentrações de 50 µg de 2,3,7,8-TCDD estas acumulavam cinco vezes os níveis do meio em 7 dias. Não se verificou a absorção de Dioxinas para o organismo pela superfície do corpo e não houve degradação da TCDD durante a digestão, pois os seus excrementos demonstravam a inexistência de mono, di e tri-CDD.

- **Organismos aquáticos:** Espécies de teleósteos sensíveis manifestaram redução no crescimento e necrose das barbatanas em concentrações inferiores a 0,1 ppt de 2,3,7,8-TCDD após uma exposição de 24 a 96 horas. Concentrações de 1 ppt ou superiores eram eventualmente fatais. Efeitos histopatológicos e teratogénicos foram descritos em trutas arco-íris muito jovens cujos ovos foram expostos a concentrações de 10 ppt de 2,3,7,8-TCDD durante 96 horas. Algumas apresentavam degenerescência extensa e necrose hepáticas, seguido de edema e morte, as restantes apresentaram alterações teratogénicas incluindo defeitos operculares e nas maxilas.

- **Aves:** Há espécies mais sensíveis nas quais a DL_{50} é apenas de 15 µg/Kg de peso vivo e outras menos sensíveis cuja DL_{50} pode ser de 810 µg/Kg de peso corporal. O pato-real (*Anas platyrhynchos*) tem uma sensibilidade intermédia com uma DL_{50} de cerca de 108 µg/Kg de peso corporal. Os sinais de intoxicação apareceram cerca de 7 dias após o tratamento incluindo: polidipsia, perda de apetite, hipoactividade, emaciação, fraqueza, debilidade, incoordenação muscular, hipersensibilidade, penas eriçadas, tremores, espasmos, convulsões, imobilidade e morte até aos 37 dias. Nas necrópsias apresentaram o fígado hipertrofiado para cerca do dobro do tamanho normal e acumulação de fluidos no pericárdio e na cavidade abdominal.

As galinhas apresentam uma relativa sensibilidade aos PCDDs com uma DL_{50} de 2,3,7,8-TCDD que varia entre 25 e 50 µg/Kg de peso corporal. Galinhas alimentadas com 1 a 10 µg/Kg de peso corporal, diariamente durante 21 dias, de 2,3,7,8-TCDD, 1,2,3,7,8,9-hexa CDD ou hepta CDD apresentaram sinais de edema do pericárdio, subcutâneo e peritonal, bem como hipertrofia hepática e necrose com degenerescência gorda, terminando em morte. Estes sinais foram observados em Itália em frangos no caso de Seveso, em 1976.

- **Mamíferos:** Estudos toxicológicos comparativos em cobaio (*Cavia* sp.) e em murganho (*Mus* sp.) confirmam diferenças significativas na sensibilidade e nos efeitos tóxicos entre espécies, por exemplo o 2,3,7,8-TCDD produz lesões cutâneas severas (cloracne) no Homem e nos macacos, edema em aves e lesões hepáticas graves em ratos, murganhos e coelhos. Esta marcada diferença é também observável entre os cobaios cuja DL_{50} para a 2,3,7,8-TCDD é 8400 vezes menor que a do hamster (*Cricetus* sp.).

1.6. Contaminação dos alimentos por dioxinas

As possibilidades de os PCDD/PCDFs serem introduzidos nas cadeias alimentares são inúmeras (figura 7).

Tanto a cadeia alimentar terrestre como a aquática são afectadas pelas emissões industriais presentes nos efluentes gasosos e líquidos. Estes contaminantes libertados na atmosfera ou na água bioconcentram-se e biomagnificam-se, transferindo-se de organismo para organismo ao

longo das cadeias tróficas, atingindo-se concentrações mais elevadas nos níveis tróficos superiores ou do “topo da pirâmide” (Fiedler, *et al.*, 2000).

Estima-se que cerca de 12 toneladas de PCDD/PCDFs são depositados na superfície do solo e cerca de 1 tonelada nos oceanos e águas superficiais, através da deposição atmosférica (Environment Canada, 2003).

O Homem, como consumidor no topo da cadeia, está exposto a PCDD/PCDFs pelo consumo de produtos agrícolas da cadeia alimentar terrestre (i.e. leite e derivados, carne, vegetais e cereais) e da cadeia alimentar aquática (i.e. peixe e outros produtos da pesca). Os animais, incluindo peixe e outros produtos da pesca criados exclusivamente com alimentos para animais produzidos industrialmente, representam uma terceira via de exposição humana (Fiedler, *et al.*, 2000).

A figura 7 procura exemplificar o modo como a produção de alimentos para animais desempenha um papel importante nesta cadeia, recebendo matérias-primas das duas cadeias alimentares, bem como reciclando resíduos de vários processos industriais, nomeadamente da indústria dos géneros alimentícios. Além disso, a utilização de lamas ou produtos da compostagem em terrenos agrícolas podem representar, através da ingestão, um vector adicional na contaminação dos produtos vegetais e dos animais de produção (Fiedler, *et al.*, 2000).

Não é possível avaliar quantitativamente a influência de cada uma destas três vias na contaminação dos alimentos para animais e assim, para a ingestão média diária dos consumidores, pela interacção que existe entre essas vias de contaminação (Fiedler, *et al.*, 2000). Sobre esta matéria, o trabalho publicado por Fiedler, *et al.*, 2000, foi, da bibliografia encontrada, aquele que de forma mais sistematizada abordou a questão da contaminação da cadeia alimentar humana, pela via dos animais de produção.

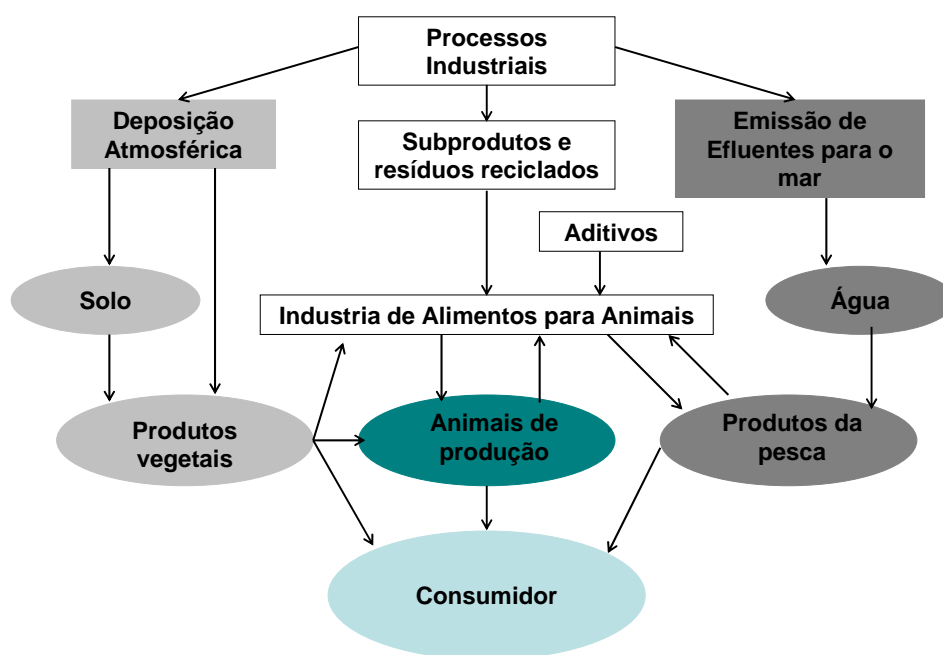


Figura 7 – Diagrama de fluxo dos PCDD/PCDFs no ambiente e vias de contaminação dos alimentos para animais e dos géneros alimentícios (adapt. de Fiedler, *et al.*, 2000).

Pode calcular-se o peso que cada género alimentício de origem animal tem na TDI, estabelecendo-se modelos que partem do nível de dioxinas médio de cada uma das matérias-primas usadas no fabrico de alimentos para animais.

O cálculo da contaminação média de PCDD/PCDFs nos alimentos para animais produzidos industrialmente, pode partir da contaminação média de cada matéria-prima, assumindo um nível médio para cada componente. Para aqueles autores, esta abordagem padece de uma grande imprecisão porque não pode ter em conta as diferentes composições para as diferentes espécies e para as diferentes fases de produção em cada espécie.

Naquela publicação são referidos diversos estudos que revelam que a contaminação média dos alimentos para animais oscila entre 0,05 e 1,4 pg I-TEQ/g de matéria seca.

A transferência dos contaminantes dos alimentos para animais para os géneros alimentícios de origem animal é normalmente descrita com base em taxas de transferência ou de manutenção (“*carry-over rates*”). Como a taxa de manutenção dos PCDD/PCDFs não é conhecida para a maioria dos produtos de origem animal, os autores referem ter utilizado o modelo “alimento para animais – leite” acerca do qual já existem alguns estudos.

Cientificamente, a taxa de manutenção numa base TEQ não faz sentido porque os diferentes congéneres comportam-se de forma diferente em termos cinéticos e metabólicos. Contudo, considerando que cerca de 30 a 40% dos PCDD/PCDFs mais tóxicos, ingeridos pelas vacas, são excretados no leite, uma taxa de manutenção de cerca de 0,3 para I-TEQ, parece aceitável para os autores. Uma vaca em lactação consome cerca de 12 a 14 kg de matéria seca de forragem

(pasto, palha, silagem) e cerca de 4 a 5 kg de matéria seca de alimento composto, por dia. Utilizando uma concentração média de PCDD/PCDFs de 0,1 pg I-TEQ/g de matéria seca para a forragem e um número dentro do que se encontrou no estudo consultado, para os alimentos compostos, de cerca de 0,26 pg I-TEQ/g de matéria seca, temos uma ingestão média diária por vaca de cerca de 2264 pg I-TEQ. Aplicando a taxa de manutenção de 0,3, obtemos uma excreção diária de PCDD/PCDFs pelo leite de cerca de 679,2 pg I-TEQ. Assumindo que uma vaca produz em média 20 kg de leite por dia com 4% de gordura, resulta uma concentração de 0,85 pg I-TEQ/g de gordura no leite. Os mesmos autores referem estudos realizados na Alemanha que revelaram concentrações médias de PCDD/PCDFs no leite que variam entre 0,5 e 1,8 pg I-TEQ/g de gordura.

Esta base de cálculo para o leite e as conclusões que dela se retiram, com utilização da taxa de manutenção, permitiu aos autores, assumir que constitui uma ferramenta adequada para calcular o impacto que as matérias-primas dos alimentos para animais, têm nas concentrações finais de PCDD/PCDFs nos produtos de origem animal para consumo humano e também para estimar a ingestão diária média humana das referidas substâncias indesejáveis.

Para o caso do leite e partindo do princípio que um adulto consome cerca de 28 g de gordura de leite por dia, usando o modelo proposto para o leite, o produto contribuiria com 23,7 pg I-TEQ para a ingestão média diária de PCDD/PCDFs (Fiedler, *et al.*, 2000).

Em estudos realizados noutros animais (aves, suínos e peixes de aquacultura), assumindo que consomem maior proporção de alimentos compostos e concentrados, permitiram concluir que o impacto da concentração em TEQ/g dos alimentos compostos e concentrados para aquelas espécies, é provavelmente muito maior (Fiedler, *et al.*, 2000).

Existem ainda outras fontes possíveis de contaminação dos géneros alimentícios, menos prováveis e pouco estudadas até agora, pelo que a literatura encontrada a esse propósito foi escassa. No entanto e para efeito do presente trabalho torna-se relevante reflectir sobre elas, nomeadamente no que se refere ao tratamento de madeira que posteriormente é utilizada nas camas de animais produtores de alimento.

O Pentaclorofenol (PCP) é um conservante de madeiras cuja produção cessou na Europa em 1992, no entanto continuaram a ser importadas e utilizadas grandes quantidades de PCP e seus derivados (Fiedler, *et al.*, 2000).

Em 1996 os Estados Membros (EM) importaram cerca de 378 toneladas de PCP sódico (PCP-Na) e 30 toneladas de PCP. Das 378 ton. de PCP-Na 126 foram para França, 108 para Portugal e 144 para Espanha. Das 30 ton. de PCP, 28 foram para o Reino Unido (UK) para serem transformadas em 46 ton. de PCP laureato (PCP-L) e as outras duas distribuídas dentro da EU. Das 46 ton. de PCP-L, 5 a 10 foram utilizadas no UK, 5 a 10 foram expedidas para França e o resto para países terceiros (Fiedler, *et al.*, 2000).

Nos EUA ainda existem dois produtores que exportam PCP e PCP-Na para a UE e apesar de estarem a diminuir a produção nos últimos anos, continuam a exportar PCP para o RU para o fabrico de PCP-L que é utilizado exclusivamente como conservante na indústria têxtil. O PCP-Na é geralmente utilizado para tratamento de madeira de construção para evitar as manchas e o desenvolvimento de fungos e é mais utilizado no Sudoeste da França, no Nordeste de Espanha e em Portugal.

Quadro 1 - Quantidades exportadas de PCP e PCP-Na por dois produtores dos EUA em toneladas (Fiedler, *et al.*, 2000).

Composto / ano	1996	1997	1998	1999
PCP	75	15	30	15
PCP-Na	397	385	341	324

Atendendo à utilização do PCP e dos seus derivados no tratamento de madeira de construção para evitar as manchas e o desenvolvimento de fungos, principalmente no Sudoeste da França, no Nordeste de Espanha e em Portugal, torna-se óbvio que estas depois da sua vida útil representam um risco de contaminação com PCDD/PCDF, se não forem devidamente encaminhadas para destruição e entrarem num qualquer processo de reciclagem que não tenha em conta o facto da sua possível contaminação (Agency for Toxic Substances and Disease Registry, 2001).

A Directiva 1999/51/CE relativa à limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas, transposta para o direito interno pelo Decreto-Lei n.º 256/2000, de 17 de Outubro dispõe a proibição do tratamento da madeira com PCP e PCP-Na a partir do ano 2009 em França, Irlanda, Portugal, Espanha e Reino Unido. Alguns países como a Áustria, Dinamarca, Finlândia, Alemanha, Holanda, Noruega e Suécia já possuem legislação nacional que proíbe a utilização do PCP e dos seus derivados naquela actividade.

A primeira directiva a dispor normas a respeito do PCP e seus derivados foi a Directiva 91/173/CEE que proibia a comercialização de materiais que contivessem uma concentração de PCP igual ou maior que 0,1% em massa (1 ppm). A directiva também determina uma concentração máxima de 4 ppm para a soma de todos os congéneres das dibenzo-dioxinas hexacloradas (CI-6DD). A Directiva 1999/51/CE baixou o limite da concentração máxima admitida de CI-6DD para 2 ppm.

As informações disponíveis sobre a circulação (importações, utilizações e exportações) do PCP e dos seus derivados na UE não são consistentes, apesar de já estar disposta a proibição da sua produção. Além da falta de informação a respeito das utilizações daqueles produtos químicos, ainda existe importação de madeira tratada com PCP, têxteis e curtumes para a UE, cuja eliminação após a vida útil não é controlada. Do mesmo modo, desconhecem-se as

concentrações de PCDD/PCDF que podem, por essa via, vir a entrar na cadeia alimentar, como por exemplo através da utilização de aparas de madeira tratada com PCP nas camas das aves em aviários (Fiedler, *et al.*, 2000).

Para calcular o impacto da contaminação das aparas de madeira utilizadas como componente de alimentos compostos para animais, Fiedler, *et al.*, (2000), assumiram, com base em outros estudos que a concentração TEQ/g de matéria seca (m.s.) das aparas era de 250 pg I-TEQ/g m.s.. Desta forma os autores concluíram que as aparas de madeira contaminadas utilizadas em alimentação animal com uma concentração de 1%, aumentavam a ingestão média diária das pessoas para 2,44 pg I-TEQ/Kg peso corporal por dia apenas pelo leite e para 4.19 pg I-TEQ/Kg peso corporal por dia quando também era ingerida carne, ovos e peixe.

Foi estudada a depleção de PCDD e PCDF em ovos obtidos de galinhas poedeiras criadas em camas de aparas de madeira tratada com pentaclorofenol, com uma contaminação de 40 pg WHO-TEQ/g. Encontraram uma recta de regressão para a semi-vida dos diferentes congêneres das dioxinas na postura, encontrando valores da ordem das 4 semanas para a depleção média dos diferentes congêneres nos ovos. Os autores consideram não poder ser excluída a via de exposição pela absorção dérmica e pela inalação, além da alimentação. Diferentes de outros estudos já efectuados que encontraram valores de 1,5 semanas para a depleção, após uma semana de exposição a alimentos para animais contaminados e de 7 semanas para bandos criados em solo naturalmente contaminado com PCDD/PCDF (Fochi *et al.* 2006).

Uma das conclusões mais importantes que se pode retirar dos estudos referidos é a que resulta de uma investigação do USDA (United States Department of Agriculture, 1997) na qual se conclui que, bovinos alimentados com aparas de madeira tratada com PCP eliminavam grandes quantidades de Cl₈DD (octaclorodibenzodioxina). A quantidade excretada era quase quatro vezes superior à quantidade ingerida, o que aponta para a possibilidade de haver formação *in vivo* de Cl₈DD a partir de pré-dioxinas, i.e fenoxifenois clorados e pentaclorofenol (Fiedler, *et al.*, 2000; Huwe, *et al.*, 2000).

O PCP e outros fenóis clorados podem produzir dioxinas e furanos *in vitro*, na presença de peroxidases e peróxido de hidrogénio (Huwe, *et al.*, 2000).

Após a ingestão de aparas de madeira contaminadas com PCP foi confirmado em aves e bovinos um perfil de contaminações no músculo em que os congêneres octa e hepta CDD eram os dominantes, à semelhança do perfil encontrado nas aparas de madeira contaminadas. No entanto na espécie bovina, ao contrário do que se passa nas aves, os congêneres 1,2,3,6,7,8 hexa CDD e 1,2,3,4,6,7,8 hepta CDF estão diferenciados, apresentando valores ligeiramente aumentados (Fries, *et al.*, 2002), o que pode demonstrar a existência de possíveis diferenças no processo de metabolização entre espécies ou a existência de impurezas na solução contaminante.

Um estudo comparativo dos perfis dos congêneres de dioxina em carne de bovino e leite de bovino na mesma região da Coreia do Sul concluiu que os congêneres com maior concentração

e mais frequentes eram OCDD, 2,3,4,7,8-PeCDF, 1,2,3,4,7,8-HxCDF, 1,2,3,6,7,8-HxCDF, 2,3,4,6,7,8-HxCDF, e 1,2,3,4,6,7,8-HpCDF, no entanto, nas dibenzodioxinas cloradas o congénere 1,2,3,6,7,8-HxCDD, apresentou 50% de frequência na carne e apenas 2% no leite. O congénere 1,2,3,4,6,7,8-HpCDD foi o PCDD que apresentou a maior concentração e frequência tanto na carne como no leite. O congénere 1,2,3,7,8-PeCDD foi 3 a 4 vezes mais frequente na carne que no leite (Kim, *et al.*, 2007).

1.7. Legislação sobre o controlo de dioxinas nos alimentos

A comunidade internacional apelou a acções globais urgentes para reduzir e eliminar a libertação de dioxinas e PCB. A Comissão participa, por isso, activamente numa série de actividades internacionais relevantes, entre as quais valerá a pena distinguir:

- A Declaração de 1990 adoptada pela Conferência do Mar do Norte, em que foi assumido, entre outros, o compromisso de uma redução de 70% das dioxinas cloradas;
- O Protocolo revisto da Convenção de Barcelona relativo à protecção do Mar Mediterrâneo contra a poluição de origem telúrica, em que as dioxinas estão incluídas na lista de substâncias a controlar;
- O grupo de trabalho misto UNECE/OMS-ECEH5 sobre os aspectos sanitários da poluição atmosférica transfronteiriça a longa distância organizou reuniões para dar início à preparação da avaliação dos riscos para a saúde dos POP provenientes de poluição atmosférica transfronteiriça a longa distância;
- Foi concluída no início de 2000 uma nova troca de cartas entre a Comissão e a OMS para reforçar e intensificar o quadro de cooperação. Durante o seminário CE/OMS sobre cooperação no domínio do ambiente e saúde (Bruxelas, Setembro de 2000), a OMS e a CE debateram a possibilidade de cooperarem futuramente sobre a questão das dioxinas e PCB, tendo chegado a decisões quanto a acções concretas.

A Comunidade Europeia é também parte contratante em diversas convenções respeitantes a dioxinas e PCB:

- A Convenção de Basileia destina-se a controlar os movimentos transfronteiriços de resíduos perigosos e sua eliminação. Os PCB e as dioxinas são considerados resíduos perigosos;
- A Convenção para a Protecção do Meio Marinho do Atlântico Nordeste (Convenção OSPAR) chegou a acordo em 1998 sobre o objectivo de cessar até 2020 as descargas, emissões e perdas de substâncias perigosas, a fim de conseguir concentrações de compostos, tais como dioxinas/PCB, próximas de zero no ambiente marinho;

- A Convenção para a Protecção do Meio Marinho na Zona do Mar Báltico: as partes contratantes declaram proibir, total ou parcialmente, o uso de PCB no Mar Báltico e bacia de recepção;
- O Protocolo sobre POP no âmbito da Convenção da Comissão Económica para a Europa das Nações Unidas sobre a Poluição Atmosférica Transfronteiriça a Longa Distância, assinado pela UE em Aarhus, em Junho de 1998, visa controlar e reduzir as emissões de poluentes orgânicos persistentes que requerem uma acção o mais urgentemente possível, tais como dioxinas e PCB;
- A Convenção de Estocolmo (Convenção POP), assinada pela UE em Maio de 2001, em Estocolmo, visa diminuir a libertação total de dioxinas, furanos e PCB, tendo em vista a sua contínua redução e, se possível, posterior eliminação.

A UE, atendendo às avaliações científicas que salientam a necessidade urgente de reduzir ao máximo as fontes de contaminação ambiental com estes compostos como a forma mais adequada de diminuir a exposição humana, estabeleceu uma estratégia para reduzir a presença de dioxinas e PCB no ambiente e nos géneros alimentícios, programando um conjunto de acções de curto a médio prazo e de longo prazo (Comissão das Comunidades Europeias, 2001b):

Acções de curto a médio prazo

- Identificação dos perigos
 - Melhor identificação das fontes de dioxinas e PCB
- Avaliação dos riscos
 - PCB não sob a forma de dioxinas
 - Desenvolvimento de métodos de medição
 - Estabelecimento de indicadores ambientais, incluindo bio-indicadores
- Gestão dos riscos
 - Medidas de prevenção
 - Controlo das emissões
 - Controlo da qualidade do ambiente
- Investigação
- Informação do público
- Cooperação com países terceiros e organizações internacionais

Acções a longo prazo

- Recolha de dados sobre o grau de contaminação do ar, água (sedimentos) e solo com dioxinas/PCB:
- Acompanhamento e vigilância do nível de contaminação do ar, água (sedimentos) e solo com dioxinas/PCB

- Identificação de medidas:

A estratégia para reduzir a presença de dioxinas e PCB na alimentação animal e humana, previa a tomada de uma série de medidas legislativas relativas aos alimentos para consumo do Homem e dos animais e assentava em três vectores principais:

- Estabelecimento de níveis máximos para a alimentação humana e animal estritos mas exequíveis,
- Estabelecimento de níveis de acção funcionando como mecanismo de “alerta rápido” de índices de dioxinas nos alimentos superiores aos desejáveis,
- Estabelecimento de níveis-alvo, no tempo, para que a exposição de uma grande parte da população europeia recue para os limites recomendados pelos comités científicos.

Com a publicação da Recomendação da Comissão 2004/705/CE, de 11 de Outubro, estabeleceu-se um programa relativo à monitorização dos níveis de base de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, tendo determinado para cada estado-membro uma frequência mínima das amostras a analisar anualmente, devendo essa frequência ser revista todos os anos em função dos resultados e da experiência adquirida. O número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente para cada estado-membro, a partir de 2004 até 31 de Dezembro de 2006 era o que consta no quadro 2.

Os procedimentos a ter em conta na amostragem a efectuar no âmbito do Plano de Monitorização das dioxinas, estavam definidos na Directiva 2002/69/CE da Comissão, de 26 de Julho de 2002, transposta para o direito nacional através do D.L. n.º 195/2003 de 23 de Agosto, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios. Contudo, esta Directiva foi revogada pelo Regulamento (CE) N.º 1883/2006 da Comissão de 19 de Dezembro de 2006 que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina em determinados géneros alimentícios. Este regulamento entrou em vigor em 1 de Março de 2007.

A Recomendação da Comissão 2004/705/CE, foi publicada considerando:

- O Regulamento (CE) n.º 466/2001 da Comissão, de 8 de Março de 2001, que fixava os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, estabelecendo teores máximos para as dioxinas nos géneros alimentícios, prevendo uma nova revisão dos teores máximos de dioxinas e PCB sob a forma de dioxina até 31 de Dezembro de 2006, com o objectivo de os reduzir significativamente.

- Que embora, do ponto de vista toxicológico, se devesse aplicar ao conjunto formado pelas dioxinas, os furanos e os PCB sob a forma de dioxina, acumulados, os níveis máximos admitidos, acabaram por ser estabelecidos níveis máximos apenas para as dioxinas e os furanos e não para os PCB sob a forma de dioxina, atendendo a que os dados disponíveis acerca da prevalência destes últimos são muito limitados.
- Ser necessário produzir dados fiáveis, à escala da Comunidade Europeia, relativos à presença de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina na mais vasta gama possível de géneros alimentícios, de modo a obter uma perspectiva clara sobre as tendências temporais dos níveis de base destas substâncias nos géneros alimentícios.
- A Recomendação 2002/201/CE da Comissão, de 4 de Março de 2002, relativa à redução dos níveis de contaminação por dioxinas, furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios, veio recomendar aos Estados-Membros que realizassem uma monitorização aleatória da presença de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, proporcionalmente à respectiva produção e consumo dos produtos.
- Os dados relativos a esta monitorização, deviam ser comunicados regularmente à Comissão, que asseguraria a sua compilação numa base de dados de acesso público para consulta.
- A Directiva 96/23/CE de 29 de Abril adoptada para a legislação nacional através do Decreto Lei n.º 148/99 de 4 de Maio, que estabeleceu as medidas de controlo dos resíduos e determinou que em situações em que se detectem resíduos de substâncias ou produtos autorizados a um nível que exceda o limite máximo admitido, se deva efectuar um inquérito na exploração de origem ou de proveniência, a fim de determinar as razões que levaram a exceder o referido limite e que, consoante os resultados daquele inquérito, sejam tomadas as medidas necessárias para a salvaguarda da saúde pública, que podem ir até à proibição de saída dos animais ou dos produtos da exploração ou do estabelecimento em causa durante um período determinado. Ainda, que todos os resultados que evidenciem um excesso do limite máximo admitido devam implicar a retirada dos produtos de origem animal em causa do consumo humano.

- O Regulamento (CE) n.º 178/2002, de 28 de Janeiro de 2002, que determina os princípios e normas gerais da legislação alimentar, estabelece, entre outras disposições procedimentos em matéria de segurança dos géneros alimentícios, no seu artigo 14º os requisitos de segurança dos géneros alimentícios e nos artigos 18º e 19º a obrigatoriedade dos operadores das empresas do sector alimentar e do sector dos alimentos para animais disporem de sistemas de rastreabilidade e de procedimentos destinados a retirar do mercado os produtos não conformes com os requisitos de segurança dos géneros alimentícios, respectivamente.

A Autoridade sanitária veterinária nacional tem a obrigação de coordenação da execução das políticas de saúde e bem-estar animal e da saúde pública veterinária que está atribuída aos serviços oficiais (à Direcção Geral de Veterinária, pelo Decreto Regulamentar n.º 11/2007, de 27 de Fevereiro), bem como as competências que lhe estão atribuídas no estabelecimento de medidas de controlo de substâncias que se transmitam aos produtos animais e que possam ser prejudiciais para a saúde humana, pelo Decreto-Lei n.º 148/99, de 4 de Maio e assim, a implementação do “Plano Nacional de Controlo de Resíduos”, cumprindo o estipulado na Directiva n.º 96/23/CE, do Conselho, de 29 de Abril e a Decisão da Comissão n.º 97/747/CE, de 27 de Outubro, relativas a medidas de controlo a aplicar a certas substâncias e aos seus resíduos nos animais vivos e respectivos produtos, bem como, suporta a Decisão da Comissão n.º 98/179/CE, de 23 de Fevereiro que estabelece regras para a colheita de amostras oficiais a utilizar na pesquisa de determinadas substâncias e seus resíduos nos animais vivos e seus produtos e na Directiva n.º 96/22/CE, do Conselho, de 29 de Abril, relativa a proibição de utilização de certas substâncias com efeitos tireostáticos e de substâncias beta-agonistas em produção animal.

O Plano consiste basicamente num sistema de vigilância que visa analisar e pôr em evidência os perigos químicos nas matérias primas de origem animal, esclarecer as razões da presença dessas substâncias perigosas nos alimentos, responsabilizando todos os intervenientes da cadeia da produção de animais e de produtos de origem animal, pela qualidade e segurança sanitária dos produtos alimentares de origem animal destinados ao consumo humano.

O Decreto-Lei n.º 148/99, de 4 de Maio, define resíduos, como resíduos de substâncias com uma acção farmacológica, dos seus produtos de transformação ou de outras substâncias que se transmitam aos produtos animais e que possam ser prejudiciais para a saúde humana.

Quadro 2 - Número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente para cada estado membro, até 31 de Dezembro de 2006.

Fonte: Recomendação da Comissão 2004/705/CE de 11 de Outubro de 2004.

Quadro: Panorâmica do número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente. A distribuição das amostras baseia-se na produção em cada país. É dada especial atenção aos géneros alimentícios que apresentam provavelmente uma grande variação dos níveis de base de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina. É o caso do peixe, em especial.

País (*)	N.º (*)	Carne e produtos à base de carne (*)				Peixe e produtos da pesca (*)		Leite e produtos lácteos (*)		Ovos (*)		Óleos e gorduras (*)			Frutos, produtos hortícolas e cereais (*)			
		Bovinos	Suínos	Ovinos	Aves de capoeira	Fígado	Peixe	Produtos de aquicultura	Leite	Manteiga/Queijo/Iogurte	Ovos de galinhas criadas em gaiolas	Ovos de galinhas criadas ao ar livre	de origem animal	de origem vegetal	Óleos de peixe/complementos alimentares	Produtos hortícolas	Frutos	Cereais
Bélgica	53	4	4	2	4	3	3	3	3	4	3	3	3	4	3	3	2	2
Dinamarca	66	3	5	2	3	3	15	5	3	3	3	3	2	3	6	3	2	2
Alemanha	147	13	13	3	6	7	7	5	14	14	10	11	12	14	4	4	2	8
Grécia	55	2	2	7	3	2	4	7	3	3	3	3	2	3	3	4	2	2
Espanha	151	7	9	11	7	6	33	16	3	3	7	7	4	10	5	9	10	4
França	168	14	8	5	15	11	18	16	12	14	12	6	6	6	3	6	4	12
Irlanda	61	7	3	3	3	3	9	3	3	5	3	3	2	3	4	3	2	2
Itália	126	10	5	5	8	5	8	14	6	3	8	15	3	7	3	12	10	4
Luxemburgo	30	2	2	1	2	1	3	1	3	3	3	2	1	1	2	1	1	1
Países Baixos	88	6	6	3	6	4	14	7	5	6	7	3	3	7	3	4	2	2
Áustria	52	4	4	2	3	2	3	3	3	3	3	7	2	3	3	3	2	2
Portugal	51	3	3	3	4	2	6	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2
Finlândia	45	3	3	2	2	1	4	3	3	3	3	3	2	3	3	3	2	2
Suécia	54	3	3	2	3	2	10	3	3	3	3	3	2	3	4	3	2	2
Reino Unido	113	7	4	10	10	4	24	12	7	4	7	3	3	5	4	3	2	4
Total UE	1 260	88	74	59	79	56	161	101	74	74	78	75	49	75	53	64	47	53
Islândia	67	2	2	1	2	1	29	2	3	3	3	2	1	1	12	1	1	1
Noruega	125	3	3	2	3	3	46	28	3	3	3	3	3	3	10	3	3	3
Total EEE	1 452	93	79	62	84	60	236	131	80	80	84	80	53	79	75	68	51	57

(*) Em 1 de Maio de 2004, a República Checa, a Estónia, Chipre, a Letónia, a Lituânia, a Hungria, Malta, a Polónia, a Eslovénia tornaram-se Estados-Membros da Comunidade Europeia. É conveniente que os novos Estados-Membros participem no programa de monitorização com a maior brevidade possível. Reconhece-se, no entanto, que importa prever disposições transitórias para estes novos Estados-Membros, pelo que não é recomendada uma frequência mínima circunscrevida para a monitorização aleatória da presença de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios nestes países.

(*) Em 1 de Maio de 2004, a República Checa, a Estónia, Chipre, a Letónia, a Lituânia, a Hungria, Malta, a Polónia, a Eslovénia e a Eslováquia tornaram-se Estados-Membros da Comunidade Europeia. É conveniente que os novos Estados-Membros participem no programa de monitorização com a maior brevidade possível. Recomende-se, no entanto, que imponha prazos de transição para estes novos Estados-Membros, pelo que não é recomendada uma frequência mínima circunscrita para a monitorização aleatória da presença de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios nestes países.

As dioxinas são substâncias que se enquadram no grupo B3 (Outras substâncias e contaminantes ambientais) do anexo I do supramencionado diploma legal.

O Regulamento (CE) n.º 315/93 Do Conselho, de 8 de Fevereiro também já estabelecia procedimentos comunitários para os contaminantes presentes nos géneros alimentícios, definindo “contaminante” como qualquer substância que não seja intencionalmente adicionada a um género alimentício mas nele esteja presente como resíduo da produção (incluindo os tratamentos aplicados às culturas e ao gado e na prática da medicina veterinária), fabrico, processamento, preparação, tratamento, acondicionamento, embalagem, transporte ou armazenagem do referido alimento ou em resultado de contaminação ambiental.

O mesmo Regulamento já proibia a comercialização de géneros alimentícios que tivessem um “contaminante” em quantidade toxicologicamente inaceitável do ponto de vista da saúde pública e em especial no plano toxicológico. Além disso, refere que os teores de contaminantes devem ser mantidos aos níveis mais baixos, razoavelmente permitidos pelas boas práticas, em todas as fases acima mencionadas. A fim de proteger a saúde pública, e em aplicação do acima disposto, ainda estabelece que devem ser fixadas tolerâncias máximas eventualmente necessárias para certos contaminantes, sobretudo no que respeita aos grupos sensíveis da população.

Dadas as disparidades existentes entre as legislações dos estados-membros no que respeita aos teores máximos de contaminantes presentes em certos géneros alimentícios e as distorções de concorrência eventualmente daí resultantes, foram necessárias medidas comunitárias para garantir a uniformidade no mercado, respeitando simultaneamente o princípio da proporcionalidade.

Posteriormente, o Regulamento (CE) n.º 466/2001, de 8 de Março, da Comissão, e demais alterações, veio fixar os teores máximos de certos “contaminantes” presentes nos géneros alimentícios e determinou que os géneros alimentícios não devem apresentar, no momento da sua colocação no mercado, teores superiores aos previstos nesse regulamento. Da mesma forma, os ingredientes alimentares utilizados na produção de géneros alimentícios compostos devem respeitar os teores máximos fixados neste diploma antes de serem adicionados aos referidos géneros alimentícios compostos. Uma vez que o efeito da diluição é proibido. Define, no seu anexo I, os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios e na secção 5 desse anexo, são identificados os relativos às dioxinas (Quadro 3).

Quadro 3 - Teores máximos do somatório de dioxinas e furanos (PCDD/F-TEQ-OMS) e teores máximos do somatório de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina (PCDD/F-PCB-TEQ-OMS). Fonte: Regulamento (CE) n.º 199/2006 da Comissão 3 de Fevereiro de 2006.

Alimentos	Teores máximos Somatório de dioxinas e furanos (PCDD/F-TEQ-OMS)	Teores máximos Somatório de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina (PCDD/F-PCB-TEQ-OMS)	Critérios de desempenho relativos a métodos de amostragem e de análise
Carne e produtos à base de carne proveniente de:			Directiva 2002/69/CE
– ruminantes (bovinos e ovinos)	3,0 pg/g de gordura	4,5 pg /g de gordura	
– carne de Aves	2,0 pg/g de gordura	4,0 pg/g de gordura	
– suínos	1,0 pg/g de gordura	1,5 pg/g de gordura	
– Fígado e produtos derivados, provenientes de animais terrestres	6,0 pg/g de gordura	12,0 pg/g de gordura	
Parte comestível do peixe e dos produtos da pesca e produtos derivados, com excepção da enguia	4,0 pg/g de peso fresco	8,0 pg/g de peso fresco	Directiva 2002/69/CE
Parte comestível da enguia (<i>Anguilla anguilla</i>) e produtos derivados	4,0 pg/g de peso fresco	12,0 pg/g de peso fresco	
Leite e produtos lácteos, incluindo a gordura butírica	3,0 pg/g de gordura	6,0 pg/g de gordura	Directiva 2002/69/CE

Em 3 de Fevereiro de 2006, foi publicado o Regulamento (CE) n.º 199/2006 da Comissão, que altera a secção 5 do anexo I do Regulamento (CE) n.º 466/2001, passando a haver dois teores máximos, um resultante do somatório das dibenzo-para-dioxinas policloradas (PCDD) e dos dibenzofuranos policlorados (PCDF), expresso em equivalente tóxico OMS com base nos TEF-OMS (factores de equivalência tóxica de 1997 da OMS), e o outro é o teor máximo para o somatório das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina (somatório de dibenzo-para-dioxinas policloradas (PCDD), dibenzofuranos policlorados (PCDF) e bifenilos policlorados (PCB)) expresso em equivalente tóxico OMS com base nos TEF-OMS (factores de equivalência tóxica de 1997 da OMS), conforme descrito no quadro 3. Este Regulamento entrou em vigor em 4 de Novembro de 2006. Acrescenta ainda, no que se refere às dioxinas e à soma das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina presentes nos produtos mencionados na secção 5 do seu anexo I, que é proibido misturar produtos conformes com produtos que excedam esses níveis, bem como é proibido utilizar ingredientes para o fabrico de outros géneros alimentícios não conformes com os teores máximos. Em 6 de Fevereiro de 2006 foi publicada uma Recomendação da Comissão,

relativa à redução da presença de dioxinas, furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios (Comissão das Comunidades Europeias, 2006f). Tendo revogado a Recomendação 2002/201/CE da Comissão, com efeitos a partir de 14 de Novembro de 2006. Neste documento é recomendado que:

- Os Estados-Membros realizem, controlos aleatórios da presença de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina e, se possível, de PCB que não se apresentam sob a forma de dioxina proporcionalmente à respectiva produção, utilização e consumo de matérias-primas para a alimentação animal, alimentos para animais e géneros alimentícios. Refere ainda que este controlo deve ser efectuado de acordo com a Recomendação 2004/704/CE da Comissão, de 11 de Outubro de 2004, relativa à monitorização dos níveis de base das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina nos alimentos para animais, e com a Recomendação 2004/705/CE da Comissão, de 11 de Outubro de 2004, relativa à monitorização dos níveis de base das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios.
- No caso de incumprimento das disposições da Directiva 2002/32/CE e do Regulamento (CE) n.º 466/2001 e demais alterações, e, em situações em que se verificarem níveis de contaminação com dioxinas e/ou de PCB sob a forma de dioxina superiores aos níveis de acção especificados no anexo I da presente recomendação, no que se refere aos géneros alimentícios e no anexo II da Directiva 2002/32/CE em relação aos alimentos para animais, os Estados-Membros, em cooperação com os operadores dêem início a investigações para identificar a fonte de contaminação; tomem medidas para reduzir ou eliminar a fonte de contaminação e verifiquem se estão presentes PCB que não se apresentam sob a forma de dioxina.
- Os Estados-Membros em que os níveis de base das dioxinas e PCB sob a forma de dioxina sejam particularmente elevados estabeleçam níveis de acção nacionais para a sua produção interna de matérias-primas para a alimentação animal, alimentos para animais e géneros alimentícios, de tal forma que, para cerca de 5 % dos resultados obtidos no controlo referido no primeiro parágrafo, se realize uma investigação para identificar a fonte de contaminação e respectivos níveis de acção (Quadro 4).
- Os Estados-Membros informem a Comissão, bem como os restantes Estados-Membros, das averiguações, dos resultados das investigações e das medidas tomadas para reduzir ou eliminar a fonte de contaminação.
- Os Estados-Membros transmitam anualmente as informações referidas no ponto anterior, o mais tardar até 31 de Março para os géneros alimentícios, e, no respeitante aos alimentos para animais, como parte do relatório anual a apresentar à Comissão nos termos do n.º 2 do artigo 22º da Directiva 95/53/CE do Conselho, excepto quando as

informações assumirem relevância imediata para os outros estados-membros, caso em que deverão ser transmitidas imediatamente.

Quadro 4 - Níveis de acção para dioxinas, furanos e PCB (COM., 2006).

Fonte: Recomendação da Comissão 2006/88/CE, de 6 de Fevereiro.

Somatório das dibenzo- <i>para</i> -dioxinas policloradas (PCDD) e dos dibenzofuranos policlorados (PCDF), expresso em equivalente tóxico OMS com base nos FET-OMS (factores de equivalência tóxica de 1997 da OMS)], e PCB sob a forma de dioxina [somatório de bifenilos policlorados expresso em equivalente tóxico OMS com base nos FET-OMS (factores de equivalência tóxica de 1997)].		
Alimentos	Nível de acção para dioxinas + furanos (TEQ-OMS)	Nível de acção para PCB sob a forma de dioxina (TEQ-OMS)
Carne e produtos à base de carne provenientes de:		
— Ruminantes (bovinos e ovinos)	1,5 pg/g gordura	1,0 pg/g de gordura
— Aves de capoeira e caça de criação	1,5 pg/g gordura	1,5 pg/g de gordura
— Suínos	0,6 pg/g gordura	0,5 pg/g de gordura
Fígado e produtos derivados, provenientes de animais terrestres	4,0 pg/g gordura	4,0 pg/g de gordura
Parte comestível do peixe e dos produtos da pesca e produtos derivados, com excepção da enguia	3,0 pg/g de peso fresco	3,0 pg/g de peso fresco
Parte comestível da enguia (<i>Anguilla anguilla</i>) e produtos derivados	3,0 pg/g de peso fresco	6,0 pg/g de peso fresco
Leite e produtos lácteos, incluindo a gordura butírica	2,0 pg/g gordura	2,0 pg/g de gordura
Ovos de galinha e ovoprodutos	2,0 pg/g gordura	2,0 pg/g de gordura
Matérias gordas		
– Gordura animal		
- de ruminantes	1,5 pg/g de gordura	1,0 pg/g de gordura
- de aves de capoeira e caça de criação	1,5 pg/g de gordura	1,5 pg/g de gordura
- de suínos	0,6 pg/g de gordura	0,5 pg/g de gordura
- de suínos	1,5 pg/g de gordura	0,75 pg/g de gordura
- mistura de gorduras animais		
- Óleo vegetal	0,5 pg/g de gordura	0,5 pg/g de gordura
- Óleos de origem marinha (óleo de peixe, óleo de fígado de peixe e óleos de outros organismos marinhos destinados ao consumo humano)	1,5 pg/g de gordura	6,0 pg/g de gordura
Frutas, produtos hortícolas e cereais	0,4 ng/kg produto	0,2 ng/kg de produto

–

Após a aplicação dos planos nacionais de controlo plurianuais previstos nos artigos 41º e 42º do Regulamento (CE) nº 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais, a informação pode ser comunicada como parte do relatório anual a apresentar à Comissão nos termos do artigo 44º do Regulamento (CE) nº 882/2004.

Em Portugal até final do ano de 2005, a coordenação do plano de monitorização das dioxinas estava a cargo de um organismo já extinto, a Direcção Geral de Fiscalização e do Controlo da Qualidade Alimentar, tendo a Direcção Geral de Veterinária apenas um papel de colaborador no que respeita às colheitas de amostras dos produtos de origem animal, pelo facto de deter estas competências, tal como já referido, a implementação do Plano Nacional de Controlo de Resíduos. A partir de 2006 foi a DGV que monitorizou os níveis de dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios.

Contudo, e tal como previsto na Recomendação 2004/705/CE, seria efectuada uma nova revisão dos teores máximos de dioxinas e PCB sob a forma de dioxina até 31 de Dezembro de 2006, com o objectivo de os reduzir significativamente. Surgindo assim em 2006 a Recomendação da Comissão 2006/794/CE de 16 de Novembro, relativa à monitorização dos níveis de base das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina e dos PCB não semelhantes a dioxinas nos géneros alimentícios. Tal como consta neste documento, foi conveniente alterar o actual programa de monitorização tendo em conta a experiência adquirida. Por conseguinte, a Recomendação 2004/705/CE foi substituída por esta nova recomendação. Sendo que para os novos Estados-Membros que aderiram à Comunidade Europeia em 1 de Maio de 2004 foram apresentadas disposições transitórias. Por conseguinte foi revogada a Recomendação 2004/705/CE.

É também referido nesta recomendação, ser importante que os dados recolhidos ao abrigo deste programa sejam comunicados regularmente à Comissão, que assegurará a compilação dessa informação numa base de dados. Convém que sejam também fornecidos dados de anos recentes, obtidos mediante um método de análise conforme com a Directiva 2002/69/CE da Comissão, de 30 de Julho de 2002, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, e que indiquem os níveis de base.

Quadro 5 - Número mínimo recomendado de amostras de géneros alimentícios a analisar anualmente para cada estado membro, até 31 de Dezembro de 2008. A distribuição das amostras baseia-se na produção em cada país.

Fonte: Recomendação da Comissão 2006/794/CE de 16 de Novembro de 2006.

Produto	Aquicultura (*)	Peixes selvagens	Carne	Leite	Ovos	Outros	Total
Nº amostras	250	483	500	250	250	267	2 000
Bélgica	4	8	18	8	7	7	52
Dinamarca	4	20	14	7	4	6	55
Alemanha	16	28	55	34	25	36	194
Grécia	6	8	14	8	4	7	47
Espanha	26	36	36	13	24	21	156
França	25	30	55	28	28	27	193
Irlanda	8	15	15	7	5	4	54
Itália	22	24	46	20	26	26	164
Luxemburgo	2	3	6	3	3	3	20
Países Baixos	7	18	26	13	20	8	92
Áustria	3	3	15	8	6	7	43
Portugal	4	12	12	6	5	6	45
Finlândia	4	10	10	6	4	6	40
Suécia	4	12	10	6	4	6	42
Reino Unido	15	30	40	19	20	20	144
Rep. Checa	6	3	11	5	5	5	35
Estónia	2	6	7	3	2	4	24
Chipre	2	6	4	3	2	3	20
Letónia	2	6	7	3	2	4	24
Lituânia	2	6	7	3	2	4	24
Hungria	3	3	11	5	10	5	37
Malta	2	3	4	3	2	3	17
Polónia	10	18	25	13	16	20	102
Eslovénia	2	3	7	3	2	4	21
Eslováquia	2	3	7	3	2	4	21
Bulgária	4	3	9	5	5	4	30
Roménia	6	3	11	9	9	10	48
Islândia	3	69	7	3	2	3	87
Noruega	54	94	11	3	4	4	170
Total	250	483	500	250	250	267	2 000

Notas. Os números indicados no quadro constituem valores mínimos. Os Estados-Membros são convidados a recolher mais amostras.

(*) *Aquicultura*: Para a aquicultura, a distribuição das amostras pelas espécies de peixe deve ser proporcional à produção. (1), Comunidades Europeias, 2006 e o mapa «Aquicultura na União Europeia» (2). Deve ser prestada especial atenção às ostras, ao mexilhão e à enguia.

Ainda neste documento, é recomendado que os Estados Membros realizem, a partir de 2007 e até 31 de Dezembro de 2008, uma monitorização dos níveis de base de dioxinas, furanos e bifenilos policlorados (PCB) sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, de acordo com a

frequência mínima recomendada das amostras a analisar anualmente, estabelecida a título de orientação no quadro 5.

O Regulamento (CE) n.º 466/2001 da Comissão, de 8 de Março de 2001, foi substancialmente alterado em várias ocasiões. Estas alterações, nos teores máximos de certos contaminantes, surgem com o objectivo de terem em conta novas informações e desenvolvimentos no *Codex Alimentarius*. Razão pela qual o texto foi clarificado, tendo sido substituído pelo Regulamento (CE) n.º 1881/2006 da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios, revogando o Regulamento (CE) n.º 466/2001. Contudo, só é aplicável a partir de 1 de Março de 2007.

Toda esta evolução da legislação tem por objectivo evitar que voltem a ocorrer crises alimentares semelhantes à que o surgiu na Bélgica no início de Séc. XXI, e que teve consequências catastróficas nos planos económico e social. Para que este tipo de episódios não se repitam é de facto necessário que os operadores económicos e as autoridades oficiais mantenham todos os procedimentos de controlo permanentemente activados, de modo a poder-se aplicar, em tempo útil, as medidas correctivas proporcionais e capazes de neutralizar os riscos sanitários associados.

Neste contexto, também têm sido efectuadas actividades de controlo em Portugal, sucedendo que, por vezes, se detectam níveis de contaminação de dioxinas superiores aos limites máximos admitidos. Subsequentemente têm de ser aplicados planos de acção com vista ao imediato controlo da situação. Foi no contexto de um estudo de caso, decorrente da detecção de teores elevados de dioxinas em carnes de aves, que decidimos pesquisar e escrever sobre o tema que constitui esta dissertação.

II. Parte - Gestão de risco de dioxinas em carnes de aves

(Estudo de caso)

1. Objectivos

No decurso das actividades oficiais de vigilância das dioxinas, realizadas durante o ano de 2004 foram detectadas duas situações de contaminação com níveis superiores aos legalmente admitidos em carnes de aves.

O objectivo central deste trabalho foi avaliar a eficácia das medidas implementadas no âmbito de um plano de acção, desenvolvido na sequência dos casos positivos de dioxinas já referidos, à luz das disposições do Decreto-lei nº 148/99 e da Recomendação 2002/201/CE e assim:

- Identificar a origem da contaminação das aves, através de análises de todas as fontes potenciais de contaminação e posterior comparação dos perfis analíticos, de 17 compostos congéneres de dioxinas, da contaminação das matérias-primas e da contaminação das carnes de aves.
- Determinação da extensão e gravidade da situação.
- Finalmente pretende-se que os resultados das avaliações efectuadas permitam delinear uma estratégia de gestão do problema de acordo com a respectiva gravidade e disposições legais aplicáveis, bem como garantir a eliminação do perigo e diminuição do risco para a saúde pública.

No que concerne ao objectivo inicial, pretende identificar-se, durante o inquérito epidemiológico a realizar de acordo com o disposto no n.º 1 do artº 18º do Dec. Lei n.º 148/99 bem como na Recomendação 2002/201/CE, as possíveis fontes de contaminação e colher amostras das respectivas matrizes, numa cadência de colheitas acordada com o Laboratório Nacional de Referência para a pesquisa de dioxinas (LAQAS/INETI).

De acordo com os resultados obtidos, promover a tomada das medidas previstas no que respeita aos animais em apreço e à exploração, de acordo com o disposto no n.º4 do art.º 18.º do mesmo diploma.

Para o segundo objectivo que se pretende atingir, propõe-se a intensificação das colheitas para pesquisa de dioxinas em outras explorações de aves a nível nacional, que apresentem factores de risco comparáveis à exploração alvo do presente estudo e, da mesma forma, promover a tomada das medidas previstas nos animais e na exploração, de acordo com o disposto na obrigação legal já referida.

O terceiro objectivo do trabalho está dependente das conclusões e da avaliação efectuada e resulta da obrigação de coordenação da execução das políticas de saúde e bem-estar animal e da saúde pública veterinária que está atribuída aos serviços oficiais (à Direcção Geral de Veterinária, pelo Decreto Regulamentar n.º 11/2007, de 27 de Fevereiro), bem como as competências que lhe estão atribuídas no estabelecimento de medidas de controlo de substâncias que se transmitam aos produtos animais e que possam ser prejudiciais para a saúde humana, pelo Deceto Lei n.º 148/99, de 4 de Maio.

A evolução dos resultados tem influência na subsequente adequação do plano, nomeadamente através da alteração ao PNCR do ano económico seguinte a submeter à Comissão Europeia. Nestas propostas de alteração tem-se em conta a evolução da situação no território nacional ou numa das suas regiões, os resultados dos inquéritos nacionais ou as verificações efectuadas no âmbito dos artigos 16º e 17º, e noutro plano trabalhar com as associações de produtores, no sentido de prestar informação sobre os factores de risco para a presença de resíduos de dioxinas na carne de aves e das formas de os eliminar.

Como condicionalismos apresentam-se à partida, o custo elevado das análises (aproximadamente 511 euro por amostra acrescido do IVA), cujo número é indeterminado uma vez que depende da gravidade e dispersão do incidente e da capacidade do Laboratório Nacional de Referência (Laboratório de Química Orgânica Analítica e de Síntese – LAQAS), integrado no Departamento de Tecnologia das Indústrias Químicas do Instituto Nacional de Engenharia, Tecnologia e Inovação – INETI. A capacidade analítica máxima deste laboratório está limitada a um máximo de 10 amostras por semana.

Como factor coadjuvante refira-se a obrigação do Estado de garantir a protecção da saúde pública e a competência orgânica da Autoridade Sanitária Veterinária Nacional no que respeita à elaboração e coordenação do “Plano Nacional de Controlo de Resíduos”, sem prejuízo de explorar a possibilidade de propor à tutela o recurso a laboratórios acreditados, noutros Estados Membros.

1.1. Antecedentes do problema

A Autoridade Sanitária Veterinária Nacional é o organismo competente para a coordenação da vigilância das cadeias de produção no sector animal e de produtos primários de origem animal. Nesse contexto, cabe-lhe, entre outras atribuições no domínio do controlo oficial, garantir que a pesquisa dos resíduos e das substâncias referidas na legislação aplicável, nos animais vivos, seus excrementos e líquidos biológicos, bem como nos tecidos, nos produtos animais, nos alimentos para animais e na água para abeberamento, se realiza com a frequência necessária.

Para se poder dar cumprimento à Recomendação da Comissão 2004/705/CE, de 11 de Outubro, que estabelece um programa relativo à monitorização dos níveis de base de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, revogada pela Recomendação da Comissão 2006/794/CE de 16 de Novembro, foram efectuadas colheitas de músculo de frango em matadouro por técnicos oficiais em conformidade com a Directiva 2002/69/CE da Comissão, de 26 de Julho e de acordo com o normativo de colheita efectuado pela “entidade competente”. Das amostras colhidas, uma revelou resultados acima do teor máximo admitido, num lote de aves. A este resultado seguiram-se colheitas nas aves da respectiva exploração, tendo-se confirmado um resultado acima do limite máximo. O resultado laboratorial desta reconfirmação revelou um nível de 4,88 pg PCDD/F-WHO-TEQ/g de gordura. Considerando que o Regulamento N.º 2375/2001 do Conselho de 29 de Novembro, alterou o Regulamento 466/2001 de 8 de Maio, e estabeleceu os limites máximos destas substâncias nos géneros alimentícios, estipulado em 2 pg PCDD/F-WHO-TEQ/g de gordura para carne de aves de capoeira, o resultado da amostra colhida na referida exploração encontrava-se acima do permitido.

Em cumprimento da Recomendação da Comissão de 2006 que propõe que os Estados-Membros, em cooperação com os operadores dêem início a investigações para identificar a fonte de contaminação e adoptem medidas para reduzir ou eliminar, as referidas contaminações. Na sequência da detecção de dois casos destas contaminações, desenvolveu-se um plano de acção designado por “Plano de Acção das dioxinas”.

2. Material e métodos

2.1. Plano de acção das dioxinas

O “Plano de Acção das dioxinas” compreendia:

- a) rastreio por amostragem aleatória em explorações de aves para consumo durante a respectiva fase de produção;
- b) determinação de restrições à movimentação das aves, abate e destruição sob controlo oficial dos bandos positivos;
- c) notificação da Comissão Europeia, através do sistema de alerta rápido, RASFF;
- d) imposição ao sector avícola, através das respectivas associações, da necessidade de fazer preceder a utilização das camas, de uma análise prévia para pesquisa dioxinas nos materiais (palhas, papel, aparas de madeira);
- e) as carcaças de aves obtidas de explorações mantidas sob vigilância poderiam ser aprovadas para consumo, condicionadas à realização de análises ao produto final, a pedido e a expensas do operador, permanecendo as carcaças congeladas até à chegada do resultado analítico. Nas explorações que apresentem resultados analíticos abaixo do limite permitido para as dioxinas na carne de aves, é levantado o estatuto de exploração sob vigilância.

A dispersão da amostragem e os procedimentos de colheita de amostras serão posteriormente descritos em pormenor.

A colheita de músculo refere-se a amostras compostas, constituídas pelos músculos de mais do que um animal em triplicado, não se tendo retirado a gordura, de modo a obter-se a quantidade adequada à pesquisa pretendida, 400g para cada sub-amostra, perfazendo uma quantidade total de 1200g. As sub amostras foram colocadas em embalagens opacas à luz (sacos de plástico preto). As três embalagens foram seladas e codificadas, constituindo uma a primeira amostra e as outras o duplicado e o triplicado.

Cada embalagem foi rotulada com: código da amostra, espécie animal (referindo o tipo de animal: pato, peru, frango), tipo de matriz (ex: músculo de frango) e natureza da pesquisa pretendida.

A primeira amostra seguiu para o laboratório, o duplicado ficou na posse da entidade que efectuou a colheita e o triplicado foi entregue ao proprietário, que foi informado que a mesma devia ser mantida congelada.

As amostras de cama foram colhidas de cada pavilhão separadamente. As colheitas de cama foram feitas em 5 pontos distintos do pavilhão e posteriormente homogeneizadas. A amostra foi então colocada em saco de plástico hermético, selado e codificado.

Utilizou-se um código numérico para efeitos de identificação das amostras constituído por 9 dígitos - 00 000 0000, sendo atribuído a cada um dos três grupos de dígitos um significado próprio. Os técnicos que procederam à colheita das amostras seguiram os procedimentos descritos nas especificações constantes no plano.

Os documentos preenchidos foram o “Auto de Colheita”: assinado pelo proprietário dos animais ou pelo seu representante (Modelo oficial). Este modelo seria remetido à Autoridade Sanitária Veterinária no caso da situação dar origem a um processo judicial. Este documento nunca foi entregue no laboratório. Foi descrito sempre a fase do ciclo de produção em que se encontravam os animais. Foi também preenchida a Folha de Requisição de Análise em duplicado (modelo oficial), Folha de Entrega de Triplicado em duplicado (no caso de colheita de amostra em triplicado).

O transporte e o armazenamento foram efectuados pelos serviços oficiais que efectuaram a colheita, de modo a assegurar as condições de estabilidade e integridade da amostra, evitando provocar qualquer alteração que pudesse afectar o teor de dioxinas e PCB sob a forma de dioxina. Cada amostra foi embalada individualmente, imediatamente após a colheita.

Foi assegurado que não ocorreria qualquer troca de identificação, contaminação cruzada ou alteração da amostra.

As amostras de camas foram conservadas em local seco e fresco, assegurando o controlo de pragas, enquanto que as amostras de músculo foram refrigeradas, se o tempo para entrega no laboratório fosse inferior a 48 horas, e congeladas se superior a 48 horas.

As amostras colhidas na sequência da instauração da vigilância, a pedido e a expensas do operador económico com o objectivo do levantamento da restrição de colocação das carnes de aves no mercado, foram também colhidas pelos serviços oficiais, seguindo o mesmo procedimento descrito para as amostras colhidas no âmbito do plano de contingência.

No âmbito do Plano de Acção das dioxinas foram amostradas 40 explorações, nas áreas de jurisdição das Direcções Regionais de Agricultura da Beira Litoral (14 explorações), Entre Douro e Minho (5 explorações), Ribatejo e Oeste (16 explorações), Alentejo (4 explorações) e Beira Interior (1 exploração).

O “Plano de Contingência” das Dioxinas foi desenhado tendo em consideração algumas condicionantes, como por exemplo: a limitada capacidade de resposta do laboratório LAQAS/ INETI, que é responsável pela determinação de dioxinas e furanos, uma vez que este instituto

apenas tem a capacidade para processar entre 8 a 10 análises semanais, alguma carência de recursos humanos especializados no terreno e, obviamente condicionantes financeiras decorrentes do preço excepcionalmente elevado das análises.

A colheita de amostras foi efectuada nos matadouros, pelas brigadas oficiais que actuam no âmbito do PNCR e nas explorações por técnicos dos serviços veterinários das regiões. Tendo sido inicialmente envolvidas quatro direcções regionais de agricultura: Entre Douro e Minho, Beira Litoral, Ribatejo e Oeste e Alentejo, pelo facto de serem estas as regiões com maior concentração de explorações avícolas.

No âmbito do “Plano” colheram-se amostras de músculo de aves e das respectivas camas, nas explorações. Da seguinte forma:

- Camas - 18 amostras em 16 explorações, colhidas pelos técnicos dos serviços regionais de agricultura;
- Músculo de aves – foram feitas 83 colheitas de amostras, cobrindo 29 explorações, inicialmente 20 amostras de carcaças de aves que se destinassem à congelação, nos matadouros, pelas brigadas do PNCR e posteriormente em explorações avícolas, por técnicos dos serviços veterinários das regiões. Estas últimas foram efectuadas apenas em aves muito jovens, no máximo até 10 dias de idade, para se poder actuar com uma margem de segurança, de forma a conhecer os resultados laboratoriais ainda durante o período de produção, i.e. antes da idade de abate;
- Rações e matérias-primas – 4 amostras colhidas em explorações positivas e fabricas de ração;
- Atmosfera dos pavilhões – 2 amostras colhidas em explorações aquecidas por combustão de madeira;
- Água de bebida - uma amostra colhida numa exploração positiva.

2.2. Método analítico

O método utilizado para a detecção e quantificação das dioxinas foi o Método 1613. Este método foi desenvolvido pela Agência de Protecção Ambiental, Ciência e Tecnologia dos Estados Unidos da América para a determinação dos 2,3,7,8-CDDs/CDFs substituídos, através de octa-clorinação, dibenzo-p-dioxinas e dibenzofuranos em matrizes aquosas, sólidas ou tecidos por diluição de isótopos, seguida de cromatografia de coluna capilar de gás de alta resolução (HRGC) / espectrometria de massa de elevada resolução (HRMS) (USEPA, 1994b).

Este método é utilizado para a determinação das dibenzo-p-dioxinas e dibenzofuranos em água, solo, sedimento, lama, tecidos e outro tipo de matrizes mediante cromatografia gasosa de elevada resolução/ espectrometria de massa de elevada resolução (HRGC/HRMS).

Em traços gerais as amostras são submetidas ao seguinte processamento: pesagem, preparação, extracção, dissolução da gordura no solvente, purificação (cleanup), injeção na matriz de separação e leitura fotométrica.

A extracção foi efectuada pelo processo Soxhlet (extracção SDS).

O procedimento consiste em homogeneizar uma alíquota de 20 g da amostra e uma alíquota de 10 g é misturada com os compostos marcados. Esse conjunto é misturado com sulfato de sódio e aguarda-se que seque durante 12 a 24 horas e posteriormente é extraído, durante 18 a 24 horas, usando cloreto de metileno: hexano (1:1) no extractor Soxhlet. O extracto é evaporado até ficar seco, e o conteúdo lipídico determinado.

Depois da extracção, $^{37}\text{Cl}_4$ - marcado 2,3,7,8-TCDD foi adicionado a cada extracto lipídico, para medir a eficiência do processo de limpeza. Nesta fase, por vezes, tem que se efectuar nova extracção com ácido e/ou base, e gel permeável, alumina, sílica gel, Florisil e cromatografia de carbono activado. A cromatografia líquida de elevada pressão (HPLC) pode ser usada para um isolamento adicional dos isómeros 2,3,7,8 ou de outros isómeros específicos ou congéneres. Previamente ao procedimento de purificação, os extractos de tecidos foram limpos numa coluna de isolamento antropogénico mediante adsorção do gel de sílica, ou ácido sulfúrico ou base novamente extraída, dependendo do procedimento utilizado para extracção do tecido.

Depois da purificação o extracto é concentrado até quase à secagem. Imediatamente antes da injeção, os padrões internos foram adicionados a cada extracto e uma alíquota de extracto é injectado no cromatógrafo gasoso. Os compostos são separadas por Cromatografia Gasosa (GC) e detectadas por espectrometria de massa (MS) de elevada resolução ($\geq 10,000$). Para cada analito foram monitorizadas duas formas m/z .

Cada CDD/CDF é identificado comparando o tempo de retenção no GC e o rácio de abundância - ião das duas formas m/z com o correspondente tempo de retenção da relação padrão e teórica ou adquirida do ião - abundância das duas formas m/z . Os isómeros não substituídos 2,3,7,8 e os congéneres são identificados quando os tempos de retenção e rácios de ião - abundância estão dentro de limites pré-definidos. A especificidade para os isómeros 2,3,7,8-TCDD e 2,3,7,8-TCDF é conseguida utilizando coluna do GC que separam estes isómeros dos restantes tetra - isómeros.

As análises quantitativas são efectuadas usando o perfil seleccionado do ião corrente, de uma das três formas:

- Para os quinze 2,3,7,8- substituídos CDDs/CDFs com compostos semelhantes etiquetados, o sistema GC/MS é calibrado, e a concentração de cada composto é determinado usando a técnica diluição isotópica.

- Para a 1,2,3,7,8,9- HxCDD, OCDF, e os compostos marcados, o sistema GC/MS é calibrado e a concentração de cada composto é determinada usando a técnica do padrão interno.
- Para isómeros não-2,3,7,8- substituídos e para todos os isómeros é dado um nível de cloração (TCDD total), as concentrações são determinadas usando factores resposta para a calibração de CDDs/CDFs com o mesmo nível de cloração.

2.3. Análise estatística

A análise estatística dos dados foi efectuada em conjunto com o Centro de estatística e Aplicações da Universidade de Lisboa, utilizando a metodologia da EPA (Environmental Protection Agency, USA) para análise de contaminantes (Russel e Plumb, 2004).

A metodologia utilizada resume-se basicamente em quatro passos.

a) Primeiro passo: *Padronização*

A concentração observada dos congêneres para cada amostra é padronizada. Os constituintes de cada amostra são convertidos para uma percentagem decimal do somatório dos congêneres.

Exemplo: para o congênere c15 da amostra 1, a concentração padronizada é igual à concentração observada (13,400) dividida pelo somatório das concentrações da amostra 1 (29,132). Sendo o resultado 0.460, que significa que 46,0% da amostra 1 é composta pelo congênere c15.

Quadro 6 - Padronização da concentração de diferentes congêneres da mesma amostra

Congénere	Concentração da Amostra 1	Concentração da Amostra 1 normalizada
c1	0,047	0,002
c2	0,190	0,007
c3	0,110	0,004
c4	1,300	0,045
c5	3,600	0,124
c6	0,630	0,022
c7	0,850	0,029
c8	1,300	0,045
c9	0,200	0,007
c10	0,540	0,019
c11	4,400	0,151
c12	0,950	0,033
c13	0,820	0,028
c14	0,080	0,003
c15	13,400	0,460
c16	0,025	0,001
c17	0,690	0,024
Somatório	29,132	

b) Segundo Passo: *Construção de gráficos de Barras das concentrações padronizadas*

Na figura abaixo está representado o gráfico da concentração padronizada dos diferentes congêneres para três amostras.

No eixo das ordenadas do gráfico de barras está representada a quantidade relativa de cada congénere na amostra (concentração padronizada) e no eixo das abcissas a identificação dos diferentes congêneres. Este gráfico dá indicação dos congêneres que existem em maior concentração e se esse padrão se mantém para as diferentes amostras.

No gráfico apresentado podemos observar que o congénere mais abundantes nas três amostras é o c15, apesar de ter proporções diferentes (46,0; 60,3 e 38,2%).

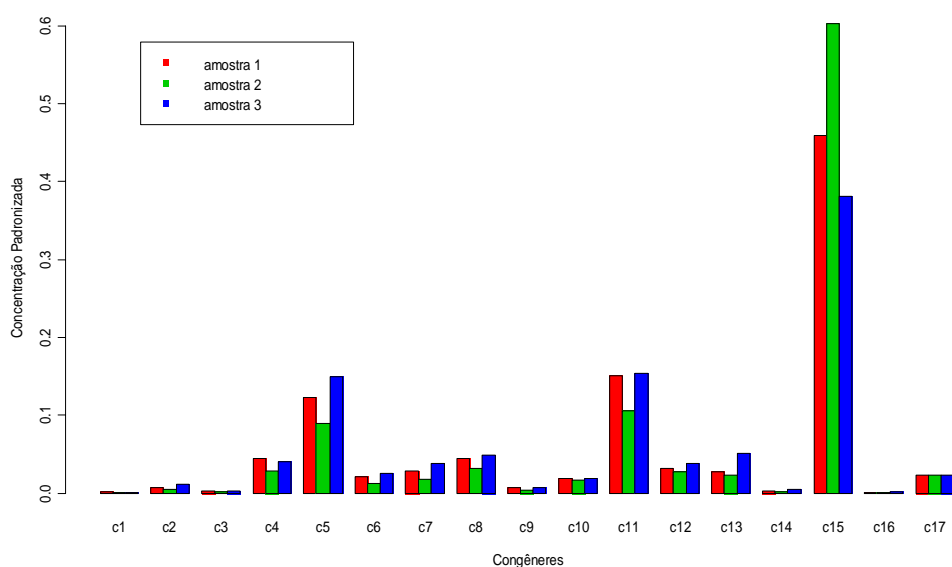


Gráfico 3 - Gráfico da concentração padronizada dos diferentes congêneres

c) Terceiro Passo: *Análise estatística*

Nesta etapa foi utilizado o quadrado do coeficiente de correlação de Pearson (r^2) como medida para avaliar se o perfil da concentração dos congêneres nas amostras (visualmente comparado no gráfico de barras) é estatisticamente semelhante. Os valores de r^2 variam entre 0 (padrões de duas amostras são totalmente dissimilares) e 1 (padrões idênticos entre duas amostras).

O coeficiente de correlação de Pearson (r) mede o grau da correlação e a direcção (positiva e negativa) entre duas variáveis de escala métrica e calcula-se da seguinte forma (Johnson, *et al.*, 2001):

$$r = \frac{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})(y_i - \bar{y})}{\sqrt{\sum_{i=1}^n (x_i - \bar{x})^2} \cdot \sqrt{\sum_{i=1}^n (y_i - \bar{y})^2}},$$

em que x_1, x_2, \dots, x_n e y_1, y_2, \dots, y_n são os valores medidos dos congêneres das amostras x e y e

$$\bar{x} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n x_i \quad \text{e} \quad \bar{y} = \frac{1}{n} \cdot \sum_{i=1}^n y_i$$

são as médias aritméticas dos congêneres de cada amostra.

Desta forma, gera-se um quadro com os valores de r^2 , em que cada amostra é comparada com todas as outras.

Quadro 7 - valores de r^2 na comparação de amostras.

	Amostra 2	Amostra 3
Amostra 1	0,97	0,98
Amostra 2		0,91

Como todos os valores do quadrado do coeficiente de correlação de Pearson são próximos de 1, pode afirmar-se que o padrão das amostras, comparadas em pares, é muito semelhante.

Para que se possa avaliar a semelhança do perfil da concentração dos congêneres nas várias amostras, utilizou-se o “*índice de reprodutibilidade*” ou comparação média global que se define como a média dos valores de r^2 encontrados.

Considera-se que os perfis são semelhantes se a média dos r^2 estiver próxima de 1 e o desvio padrão (dp) próximo de zero.

No exemplo dado no Quadro 7, a média dos r^2 é igual a 0,95 e desvio padrão igual a 0,04, concluindo-se que os perfis são semelhantes nas três amostras.

d) Quarto Passo: Avaliação da fonte de contaminação

Para os dados aqui apresentados, a metodologia da EPA foi aplicada somente após a realização de análise de hierárquica de *cluster* (Johnson, *et al.*, 2001). O objetivo desta análise prévia foi a obtenção de grupos de contaminados (aves) e de contaminantes (camas) em que a semelhança dentro de cada grupo fosse a maior possível.

Encontrado o perfil dos congêneres da contaminação por dioxinas nas amostras de carne de aves e nas amostras das camas utilizadas na produção avícola, a mesma metodologia das etapas anteriores foi aplicada para investigar uma possível associação entre ambas.

Para isso criaram-se novas “amostras”, iguais às médias das amostras das camas, pertencentes ao mesmo cluster, e realizaram-se os passos 2 e 3 para um novo conjunto de dados que agora contém as amostras das concentrações padronizadas do contaminado (aves) e as médias das concentrações padronizadas dentro de cada cluster do contaminante.

3. Resultados

No âmbito do Plano de Acção das dioxinas foram amostradas 40 explorações, nas áreas de jurisdição das Direcções Regionais de Agricultura da Beira Litoral (14 explorações), Entre Douro e Minho (5 explorações), Ribatejo e Oeste (16 explorações), Alentejo (4 explorações) e Beira Interior (1 exploração).

Das amostras colhidas nas 40 explorações obtiveram-se 15 com resultados positivos, ou seja foram colocadas 15 explorações sob vigilância (4 da área da Direcção Regional de Agricultura de Entre Douro e Minho; 3 da área da pertencentes à Direcção Regional de Agricultura da Beira Litoral, 8 da área da Direcção Regional de Agricultura do Ribatejo e Oeste).

Das análises laboratoriais efectuadas às explorações em vigilância, nos ciclos de produção seguintes, manteve-se a positividade em: uma exploração na região de Entre Douro e Minho; duas explorações na região da Beira Litoral e duas no Ribatejo e Oeste.

Por haver a necessidade de avaliar a situação nas outras regiões do país, foram também incluídas no estudo as DRA do Algarve, Beira Interior e Trás-os-Montes, não tendo sido verificado qualquer resultado positivo.

Dos dados disponíveis pode apurar-se que foram abatidas compulsivamente, para destruição, um total de 72577 aves de capoeira das explorações positivas.

No Quadro 8 pode ver-se a distribuição da totalidade das amostras colhidas de acordo com as respectivas matrizes, bem como, os resultados globais da totalidade das amostras efectuadas.

Quadro 8 - Amostras colhidas de acordo com a respectiva matriz

Total		
	N=	n ⁺
Músculo de aves	83	44
Cama	13	6
Rações e matérias primas	4	0
Água	1	0
Casca de arroz	5	1
Atmosfera dos pavilhões	2	0
Total	108	51

Legenda: N= Número de amostras

n⁺ Amostras com resultados positivos (convencionados como superiores a 2 pg I-TEQ/g)

Os resultados individuais de cada amostra por exploração, matriz e código, constam no Anexo 1. Nos resultados das análises de músculo verifica-se que do ponto de vista dos valores da contaminação total em WHO-TEQ, não existe um padrão em termos de espécie, idade ou região do país (Anexo 1).

Todas as amostras de ração e respectivas matérias-primas, bem como da atmosfera dos pavilhões revelaram resultados abaixo do valor de 2 pg WHO-TEQ/g.

Das 5 amostras de casca de arroz utilizadas nas camas das aves, obtiveram-se 4 resultados de dioxinas abaixo de 2 pg TEQ/g (0,045; 0,056; 0,061 e 0,574) e um resultado de 4,4 pg. Estes valores descartam a hipótese de a casca de arroz ser uma possível fonte de contaminação das aves e assim este material é excluído do âmbito deste estudo.

Os teores WHO-TEQ de dioxinas mais elevados foram detectados em músculo de pato (77,93 pg WHO-TEQ/g). Também numa amostra de peru se detectaram valores muito elevados (50,89 pg WHO-TEQ/g) (Anexo 3).

Como consequência das acções efectuadas pelo IGAOT, foi apurado pelo referido organismo, um claro incumprimento da legislação ambiental em vigor no que respeita à separação e eliminação dos subprodutos e dos resíduos da indústria da madeira e que os mesmos eram em grande parte encaminhados para a produção avícola nacional, onde eram utilizados como camas de aves.

As associações responderam de imediato ao alerta dado pelos serviços veterinários oficiais e tomaram medidas em conjunto com o sector avícola no sentido de alterar os materiais utilizados na composição das camas para a produção de aves, começando a utilizar-se materiais alternativos, como casca de arroz e palha traçada.

3.1. Análise dos dados

As medidas de gestão de risco tomadas sobre as explorações e os produtos basearam-se nos valores de toxicidade total, TEQ Total. No entanto, o tratamento dos dados foi efectuado com base nos valores da concentração de cada congénere e do perfil da contaminação de cada matriz pela comparação da relação proporcional da concentração de cada congénere.

Para a análise dos dados relativos aos resultados de dioxinas obtidos no decurso do Plano de Acção foi utilizada a nomenclatura indicada na Tabela 3 para os diferentes congéneres de dioxinas.

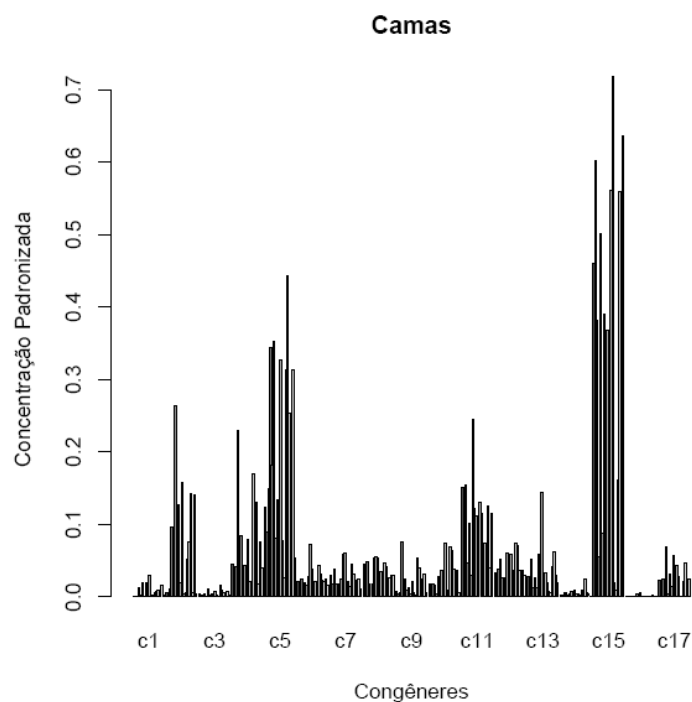
Tabela 3 – Nomenclatura utilizada neste trabalho para os diferentes congéneres das dioxinas e furanos

Congénere	Nome
C1	2,3,7,8-TCDF
C2	2,3,7,8-TCDD
C3	1,2,3,7,8-PeCDF
C4	2,3,4,7,8-PeCDF
C5	1,2,3,7,8-PeCDD
C6	1,2,3,4,7,8-HxCDF
C7	1,2,3,6,7,8-HxCDF
C8	2,3,4,6,7,8-HxCDF
C9	1,2,3,7,8,9-HxCDF
C10	1,2,3,4,7,8-HxCDD
C11	1,2,3,6,7,8-HxCDD
C12	1,2,3,7,8,9-HxCDD
C13	1,2,3,4,6,7,8-HpCDF
C14	1,2,3,4,7,8,9-HpCDF
C15	1,2,3,4,6,7,8-HpCDD
C16	OCDF
C17	OCDD

3.2. Análise de camas de aves

Das 18 análises efectuadas às camas das aves obtiveram-se resultados, cujo perfil apresenta uma correlação média (r^2) de 0,46 e um desvio padrão (dp) de 0,39:

Gráfico 4 - Resultados padronizados da totalidade de análises efectuadas em camas.



Atendendo à fraca correlação verificada ($r^2 = 0,46$) e ao elevado valor do desvio padrão do conjunto das 18 amostras de camas ($dp = 0,39$), entendeu-se fazer uma análise de *clusters* para agrupar as amostras de acordo com a sua semelhança em termos de perfil, assim obtiveram-se três classificações de perfil (três grupos), sendo excluída a amostra nº 8 cujo perfil não se enquadrava em qualquer dos três grupos, conforme se apresenta na Figura 8.

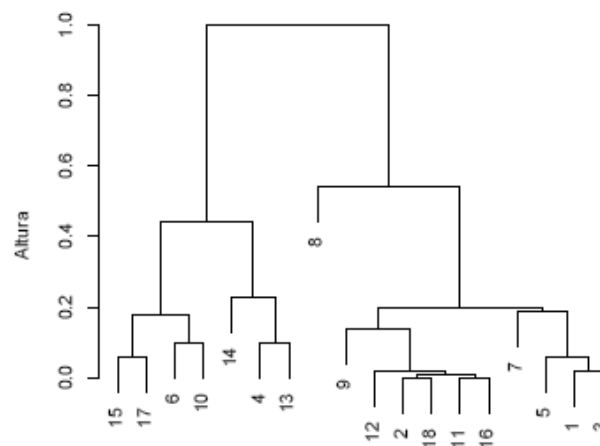
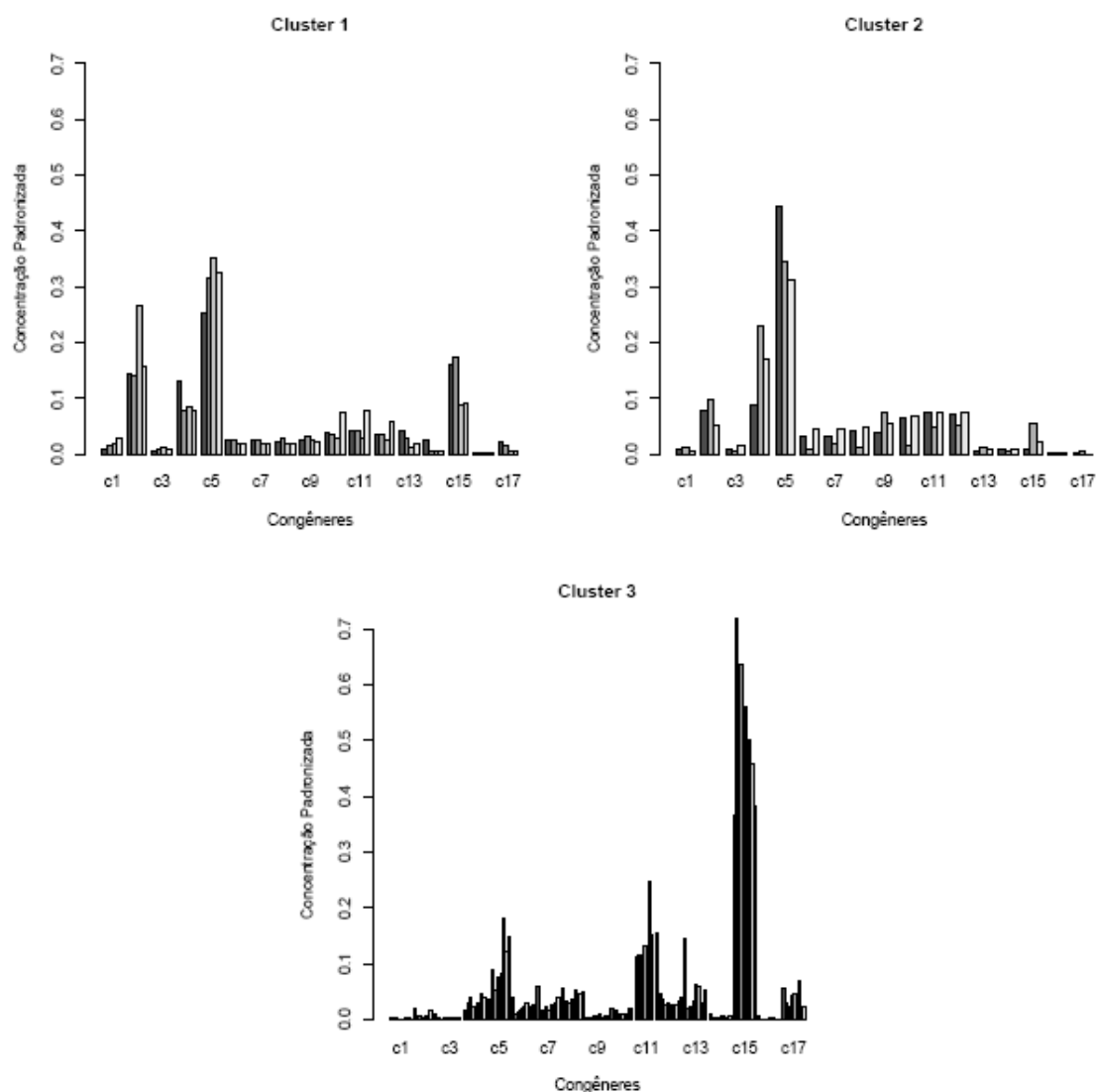


Figura 8 – Gráfico dos *clusters* (dendograma) das amostras de camas de aviários.

Faz-se notar que no tratamento dos dados relativos às análises efectuadas nas camas das aves, não foi tomado em conta qualquer valor limite para excluir do estudo as amostras que não têm relevância para as medidas de gestão de risco, tal como se procedeu para as análises de carne de aves. Este facto tem a desvantagem de permitir incluir no estudo amostras de camas de aves que certamente não serviram de fonte de contaminação para as carnes das aves que nelas foram criadas, no entanto tem a vantagem de permitir comparar o perfil da contaminação das camas que eventualmente terão servido de fonte de contaminação e as que terão tido valores de toxicidade total negligenciável.

Gráfico 5 - Perfil dos congêneres de dioxina nas amostras de cama de aves (três grupos).



Dentro de cada grupo estabelecido verifica-se uma elevada correlação e uma variabilidade bastante reduzida (Quadro 9). Os dados revelam a existência de robustez na correlação obtida entre as camas de cada um dos grupos, especialmente se se conjugar com a observação e análise do Gráfico 5.

Quadro 9 - Correlação e variabilidade dentro de cada um dos três grupos de camas de aves.

Grupo (Cluster de camas)	Correlação média (r^2)	Desvio padrão	Amostras
1	0.87	0.05	15, 17, 6 e 10
2	0.85	0.07	14, 4 e 13
3	0.92	0.06	9, 12, 2, 18, 11, 16, 7, 5, 1 e 3

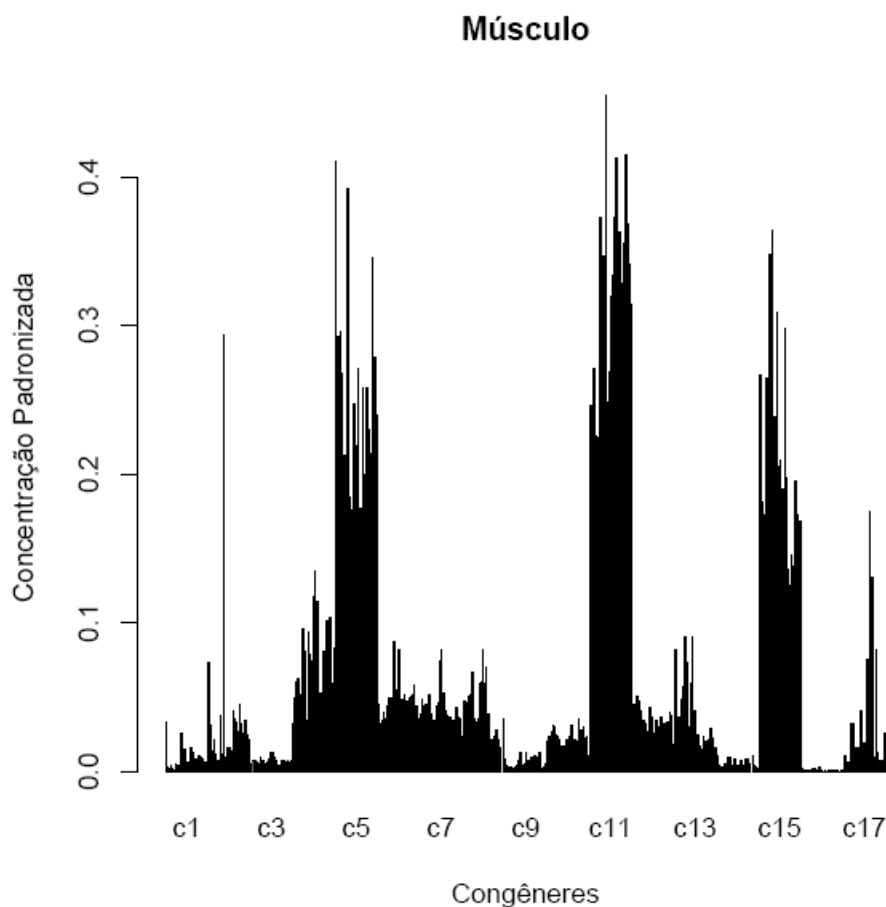
Assim, verifica-se a possibilidade da existência de pelo menos três fontes possíveis de contaminação dos diferentes tipos de aparas de madeira utilizadas nas camas, ou ainda a possibilidade da existência de apenas duas fontes diferentes de contaminação das camas que apresentam um perfil diferente por haver mistura destes na constituição das camas. No entanto, pela análise do Anexo 2, pode verificar-se que todas as amostras que apresentavam uma contaminação considerável (valor TEQ superior a 2 pg) e que podem eventualmente ter constituído a fonte de contaminação das carnes das aves, se encontram no grupo número 3.

3.3. Análise de músculo de aves

Das 82 análises de músculo de aves efectuadas apenas 44 apresentaram valores superiores a **2 pg PCDD/F-TEQ-OMS/g de gordura**, e é apenas sobre estas que o estudo recai.

Da análise dos perfis dos congêneres das 44 amostras resultou a seguinte apresentação global dos resultados, cujo perfil apresenta uma correlação média (r^2) de 0,7 e um desvio padrão de 0,22:

Gráfico 6 - Resultados padronizados da totalidade de análises efectuadas em músculo de aves.



A correlação verificada no conjunto das amostras é relativamente robusta, mas o desvio padrão do conjunto das 44 amostras é relativamente alto. Por isso procedeu-se a uma análise de *clusters* para agrupar as amostras de acordo com a sua semelhança em termos de perfil. Obtiveram-se seis classificações de perfil (seis grupos). Foram eliminadas as amostras 1, 17 e 28 por se apresentarem completamente isoladas de qualquer dos perfis, não apresentando qualquer semelhança entre elas (dendograma não apresentado).

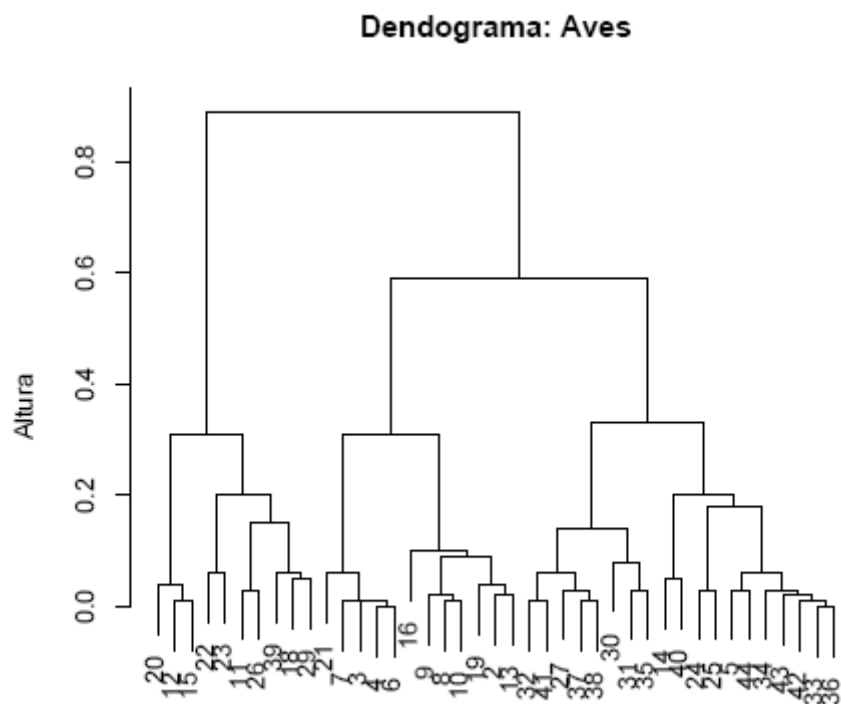
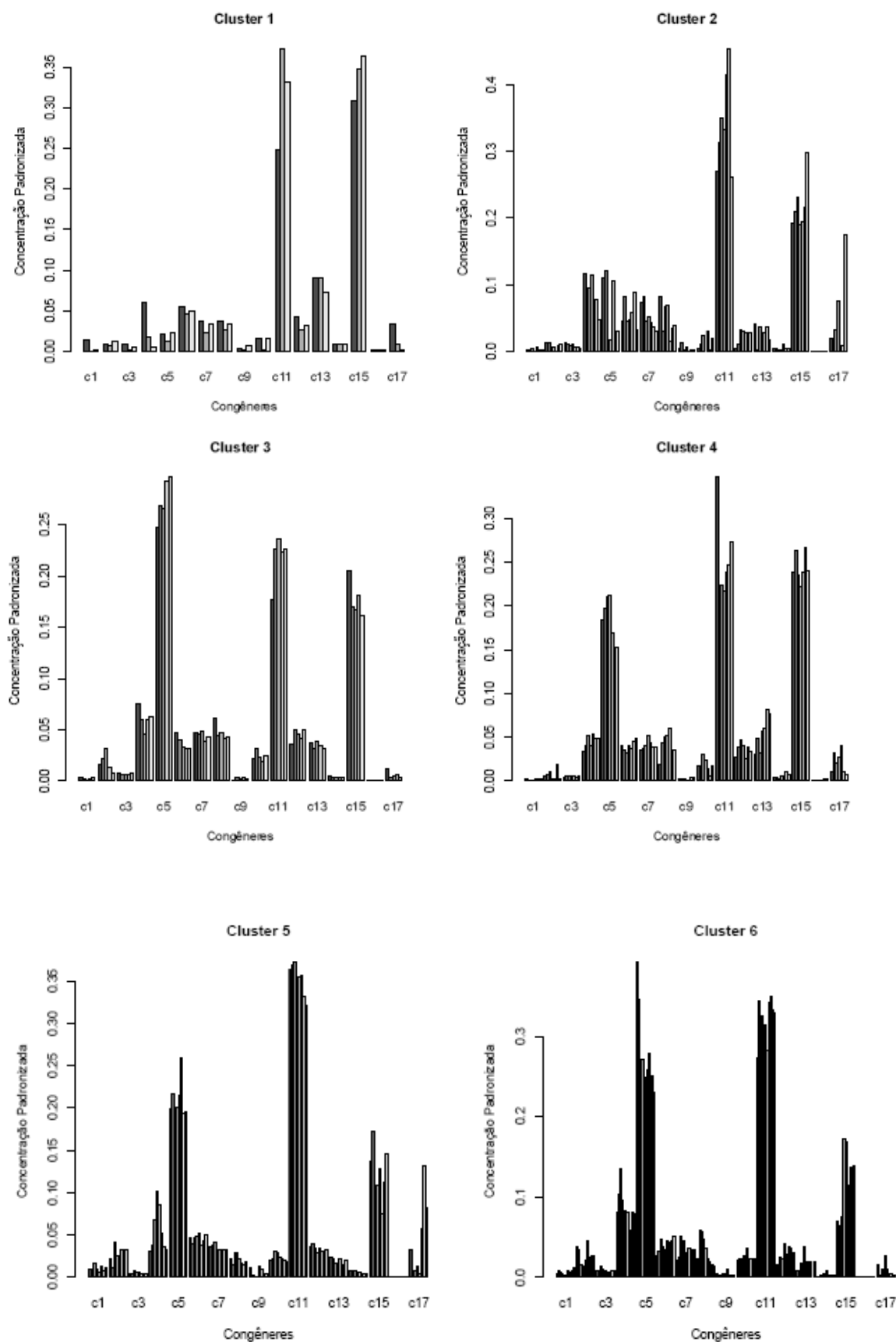


Figura 9 – Dendograma das amostras de músculo de ave (resultado sem as amostras 1, 17 e 28).

De acordo com a análise feita, o agrupamento das amostras de acordo com o perfil estatístico apresenta-se no Quadro 10.

Gráfico 7 - Perfil dos congêneres de dioxina nas amostras de músculo de aves (seis grupos).



Nos grupos encontrados verifica-se também um elevado coeficiente de correlação e uma variabilidade bastante reduzida dentro de cada um deles (Quadro 10). A análise revela a existência de uma grande proximidade do tipo de contaminação no conjunto de determinações em músculo de ave de cada um dos grupos. Assim, conjugando os dados com a análise do Gráfico 7, constata-se a existência de fontes de contaminação que, apesar de diferentes, apresentam uma grande semelhança nos picos que apresentam nos congéneres C5 (1,2,3,7,8-PeCDD), C11 (1,2,3,6,7,8-HxCDD) e C15 (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD).

Quadro 10 - Correlação e variabilidade dentro de cada um dos seis grupos de músculo de aves.

Grupo (<i>Cluster</i> aves)	Correlação média (r^2)	Desvio padrão	Amostras
1	0,97	0,02	20, 12 e 15
2	0,83	0,12	22, 23, 11, 26, 39, 18 e 29
3	0,97	0,02	21, 7, 3, 4 e 6
4	0,94	0,03	16, 9, 8, 10, 19, 2 e 13
5	0,93	0,04	32, 41, 27, 37, 38, 30, 31 e 35
6	0,92	0,06	14, 40, 24, 25, 5, 44, 34, 43, 42, 33 e 36

3.4. Comparação do padrão dos perfis da contaminação das camas com o perfil da carne das aves.

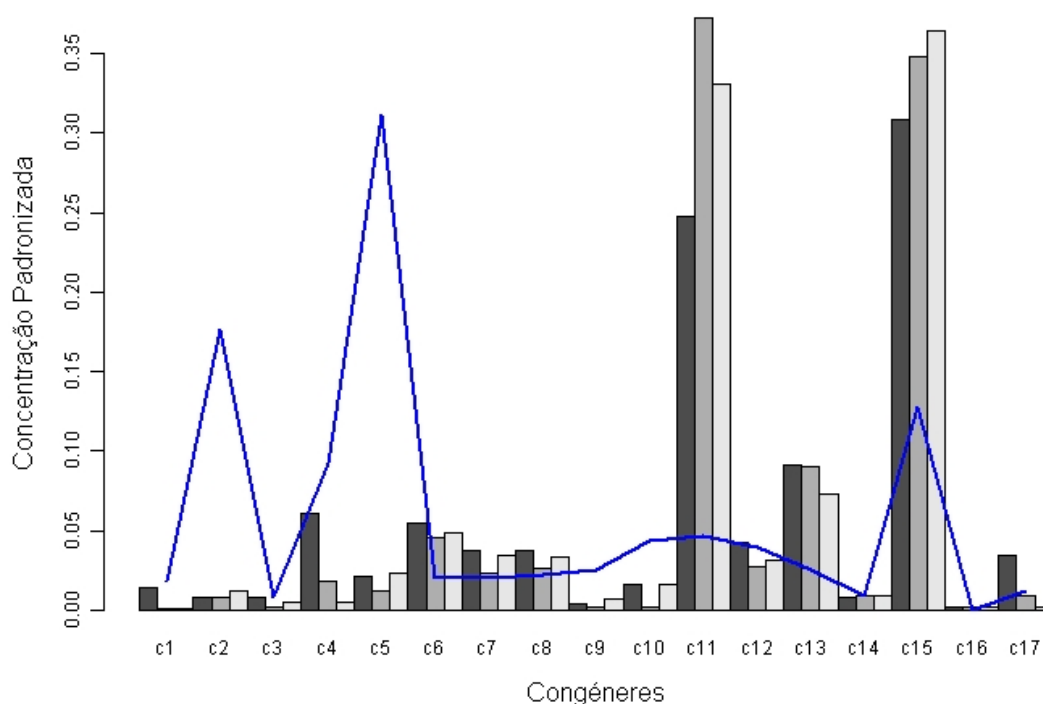
Um dos objectivos deste estudo que consistia na identificação da fonte de contaminação, pela análise de todas as matérias que pudessem estar na origem da contaminação e pela comparação da contaminação destas matérias e da contaminação das carnes de aves, pelos seus perfis analíticos relativos aos 17 compostos afins de dioxinas. Pelo facto da alimentação e da água da bebida apresentarem concentrações TEQ negligenciáveis, certamente devidas a contaminações ambientais não controláveis e de importância relativa, caíram as suspeitas que recaiam sobre estas matérias, mas permaneceram as camas como principal fonte suspeita pela contaminação das carnes das aves.

Considerando a identificação de vários padrões de perfis de contaminação das camas utilizadas na produção de aves e das carnes das aves das explorações alvo de controlo oficial efectuou-se a comparação de cada um dos 3 padrões encontrados nas camas com

cada um dos 6 padrões encontrados nas carnes. Apresentam-se os resultados desta avaliação comparando igualmente os perfis 1 e 2 das camas com os perfis da contaminação das aves, apesar de considerarmos que as amostras que os compõem não podem ter funcionado como fonte de contaminação das aves pela baixa concentração que apresentam.

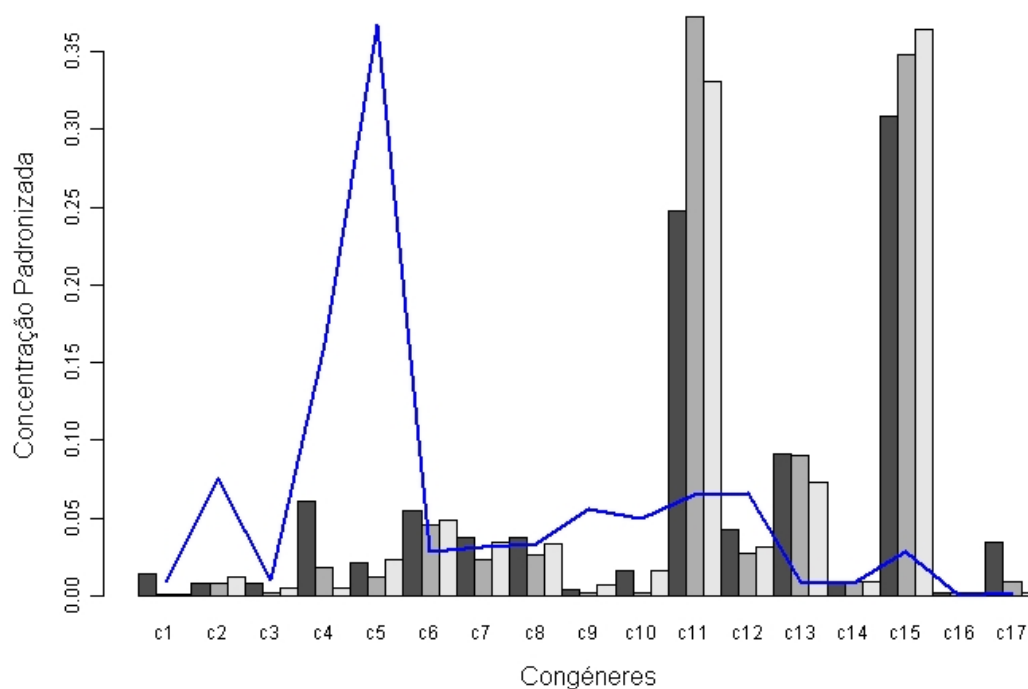
Gráfico 8 – Comparação aves cluster 1 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul).

$r^2=0,02$ e $dp=0,0$.



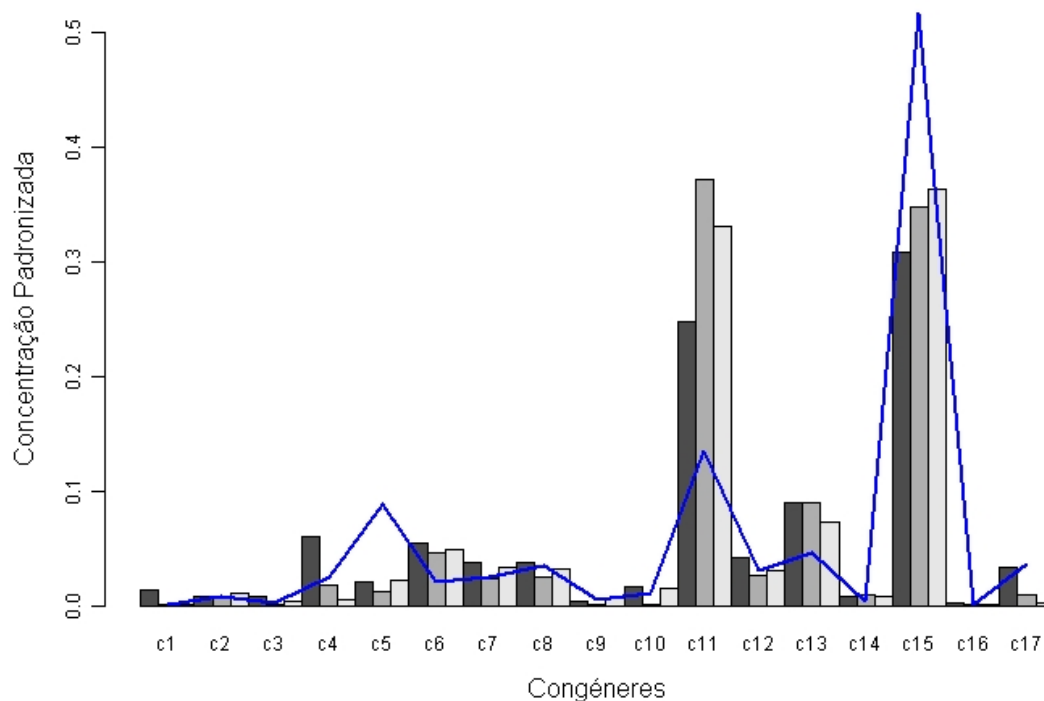
A comparação destes dois perfis apresenta em média uma correlação baixa, porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 9 - Comparação aves cluster 1 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,0$ e $dp=0,0$.



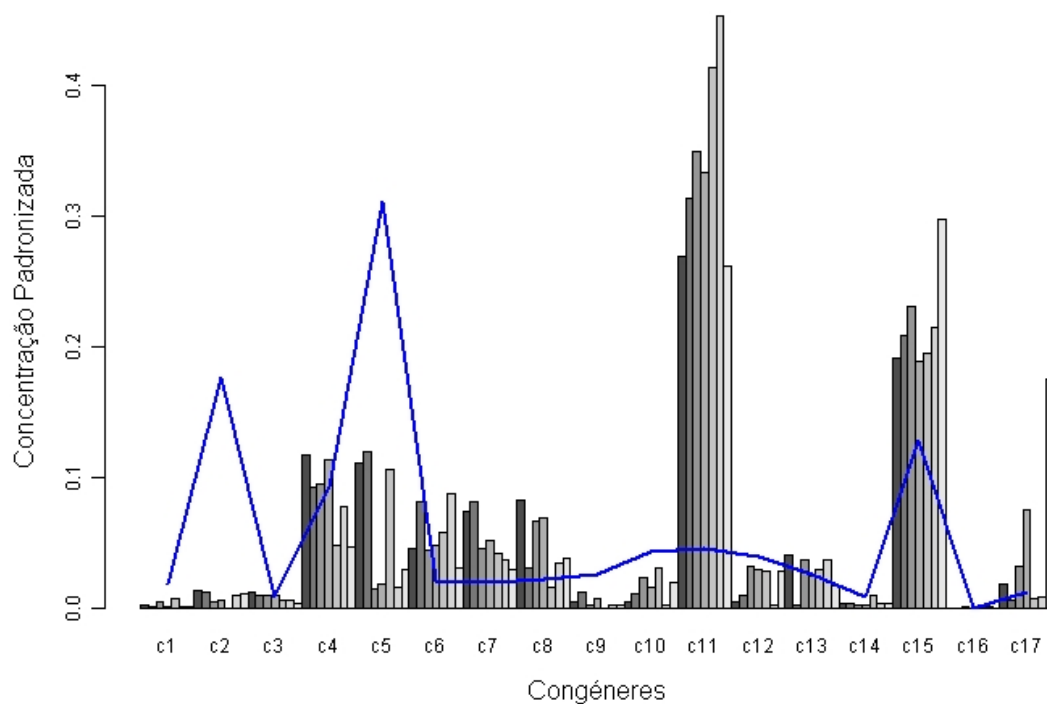
A comparação destes dois perfis também apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 10 - Comparação aves cluster 1 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,7$ e $dp=0,02$.



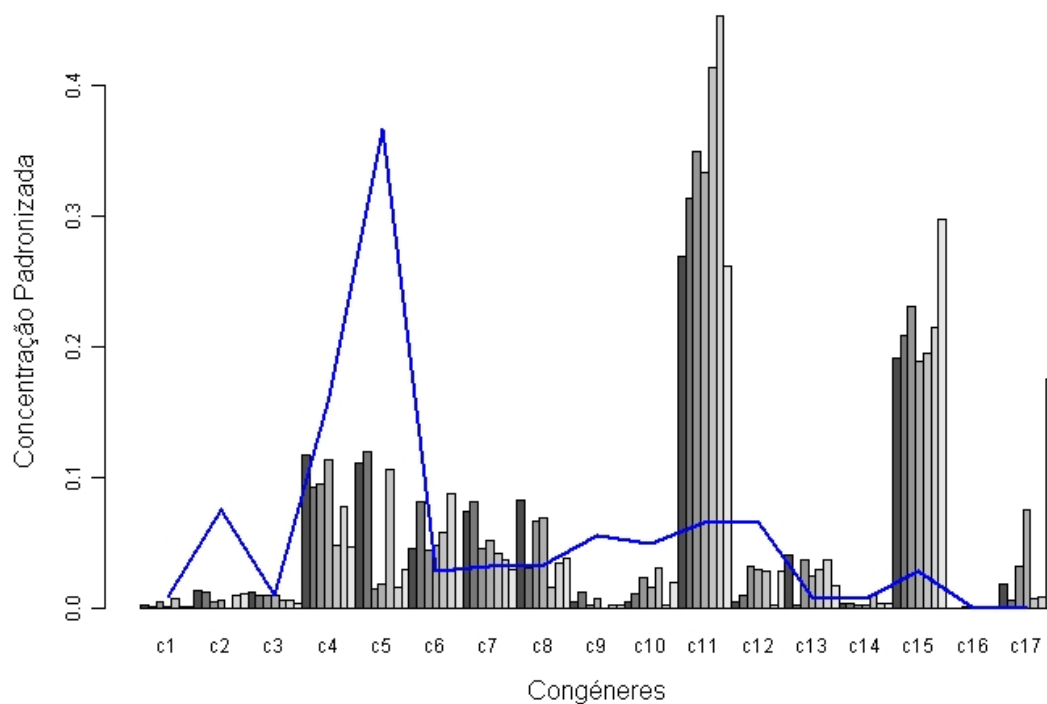
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas coincidem, na generalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C11 e C15.

Gráfico 11 - Comparação aves cluster 2 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul). $r^2=0,04$ e $dp=0,05$.



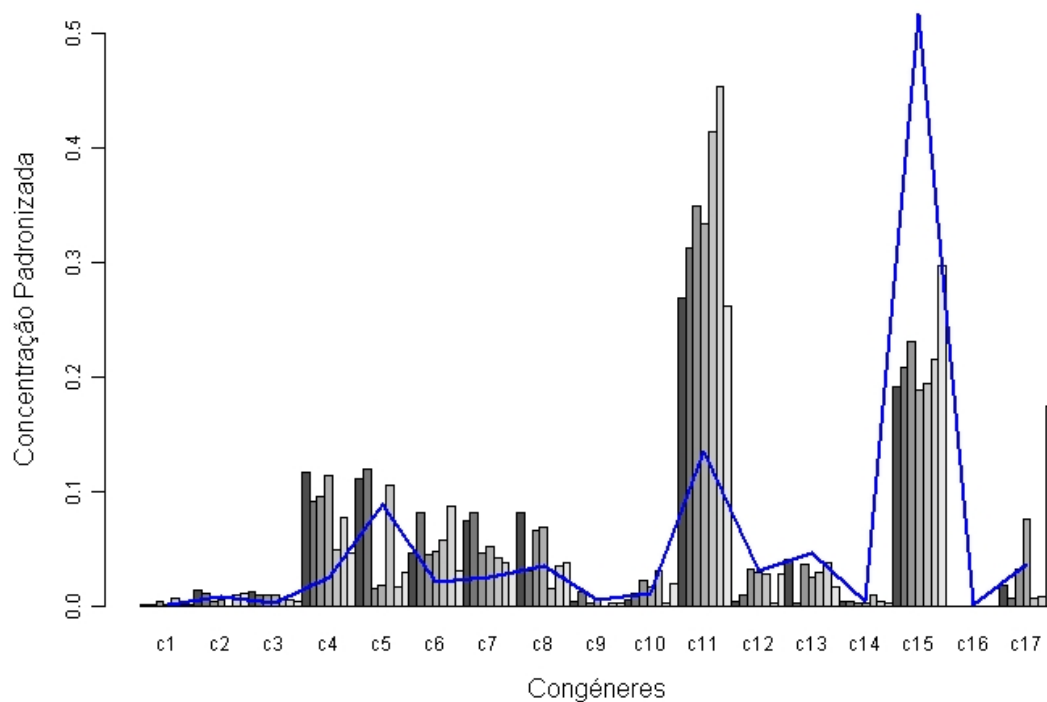
A comparação destes dois perfis apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 12 - Comparação aves cluster 2 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,03$ e $dp=0,04$.



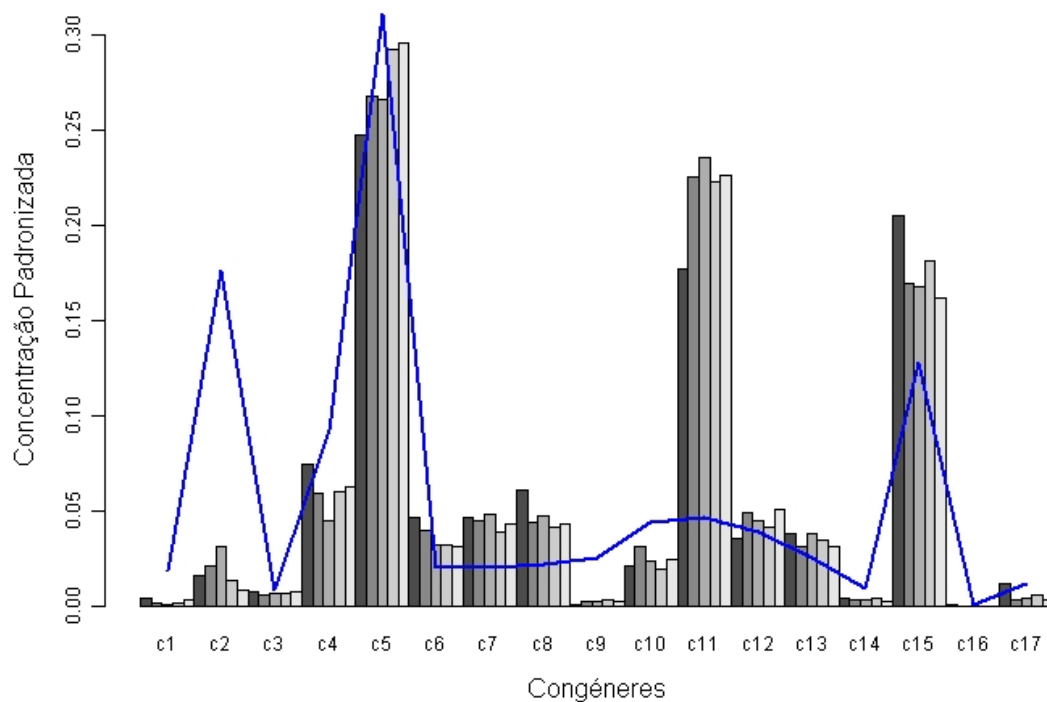
A comparação destes dois perfis também apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 13 - Comparação aves cluster 2 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,41$ e $dp=0,12$.



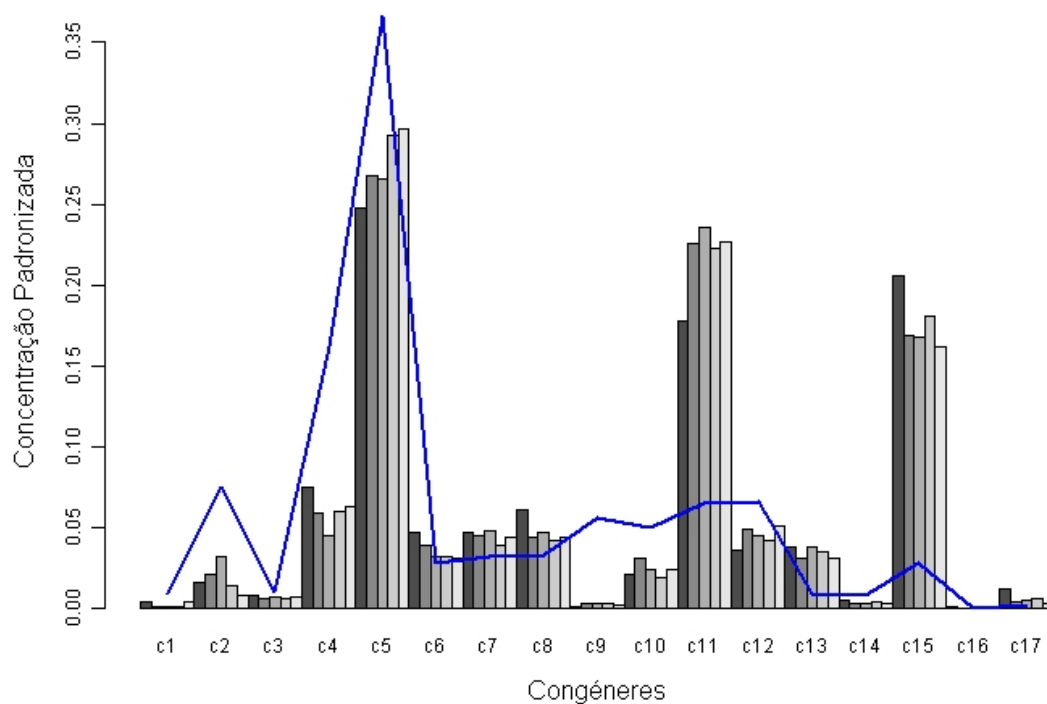
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas coincidem, na generalidade, com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C11 e C15 e ao comportamento quase mimético da representação gráfica das concentrações relativas dos diferentes congêneres de dioxina em ambas as matrizes.

Gráfico 14 - Comparação aves cluster 3 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul). $r^2=0,49$ e $dp=0,01$.



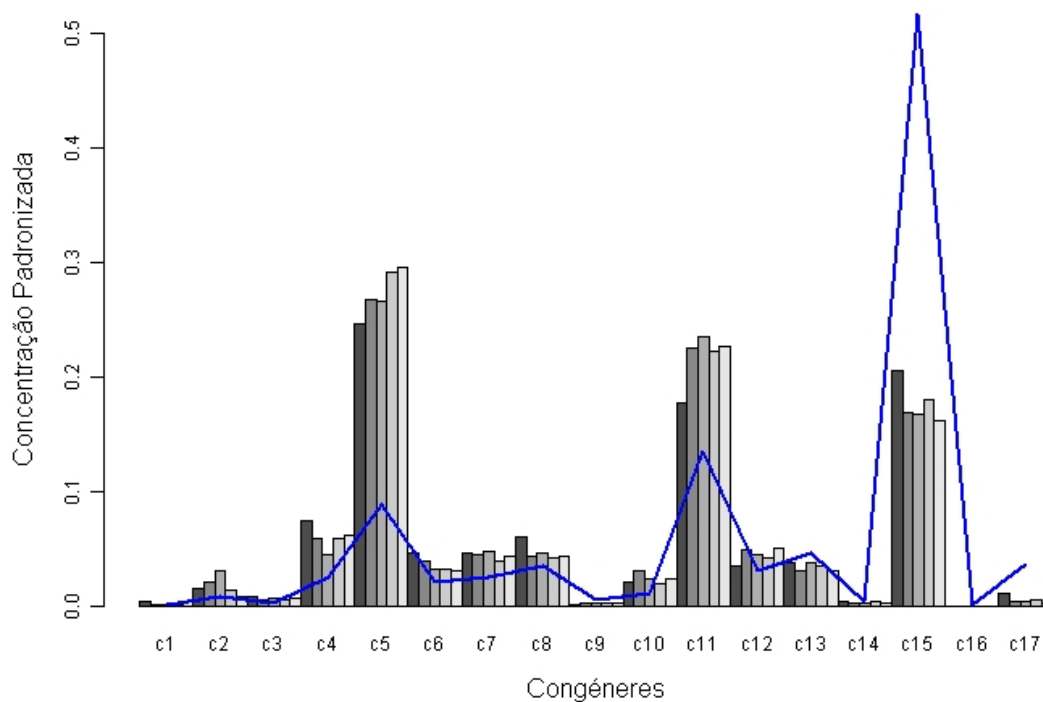
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação, no entanto os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 15 - Comparação aves cluster 3 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,47$ e $dp=0,04$.



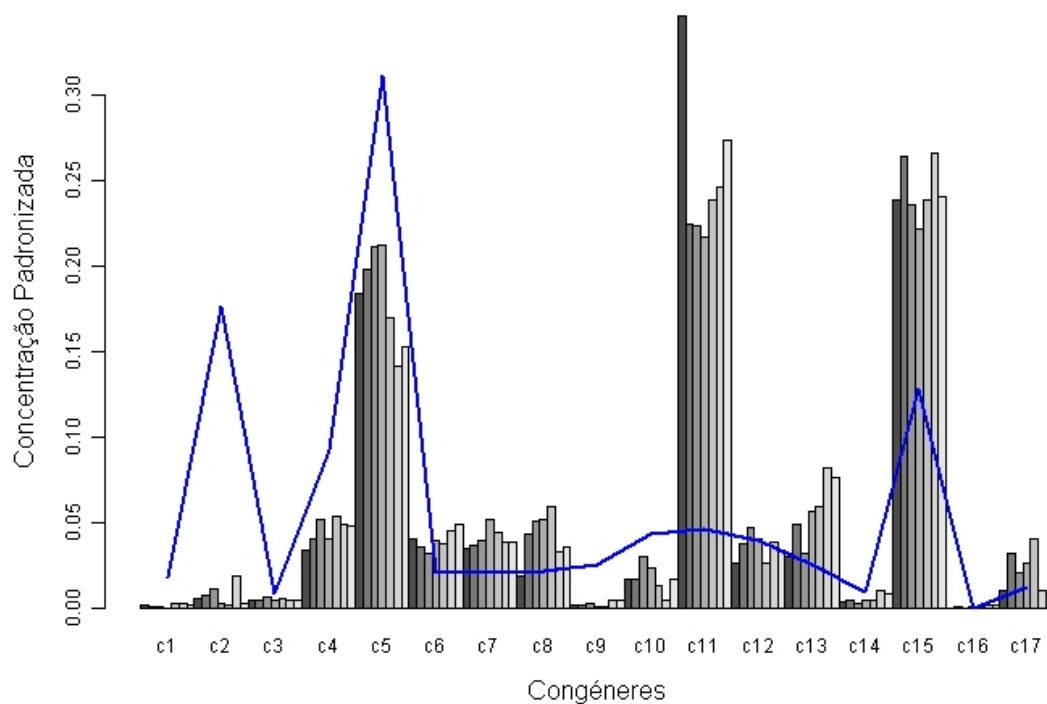
A comparação destes dois perfis também apresenta alguma correlação, no entanto os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 16 - Comparação aves cluster 3 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,35$ e $dp=0,07$.



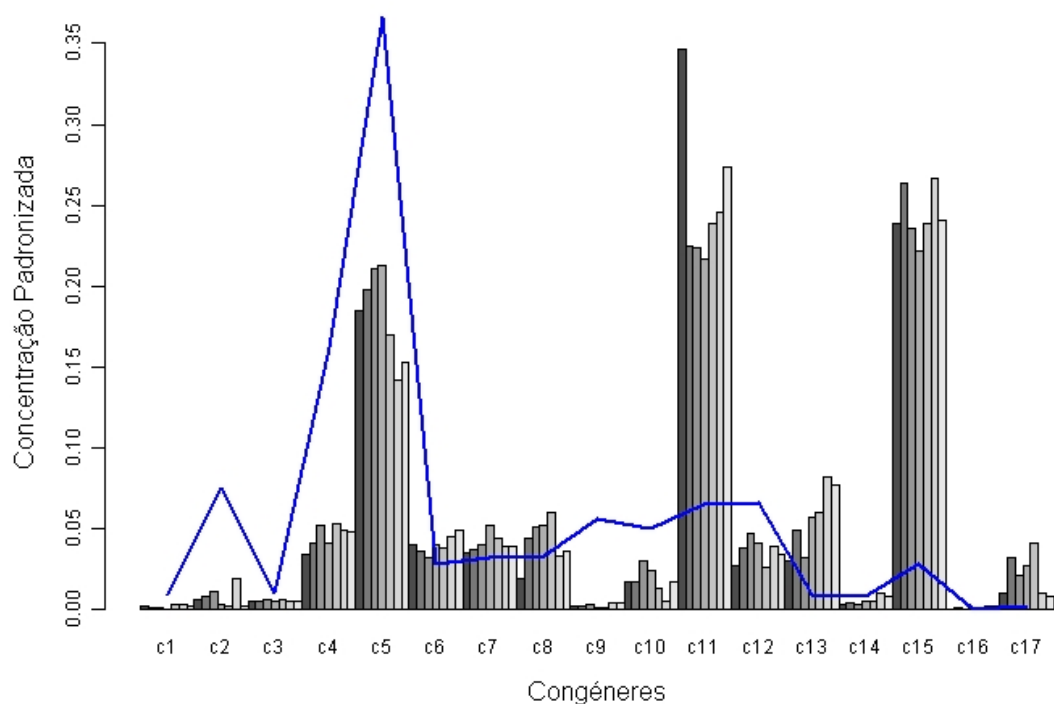
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação que não é tão expressiva como a coincidência gráfica dos picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C5, C11 e C15. Nota-se, no entanto que o comportamento gráfico das concentrações relativas dos diferentes congêneres de dioxina em cada matriz, apresenta expressões comparativas diferentes.

Gráfico 17 - Comparação aves cluster 4 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul). $r^2=0,25$ e $dp=0,08$.



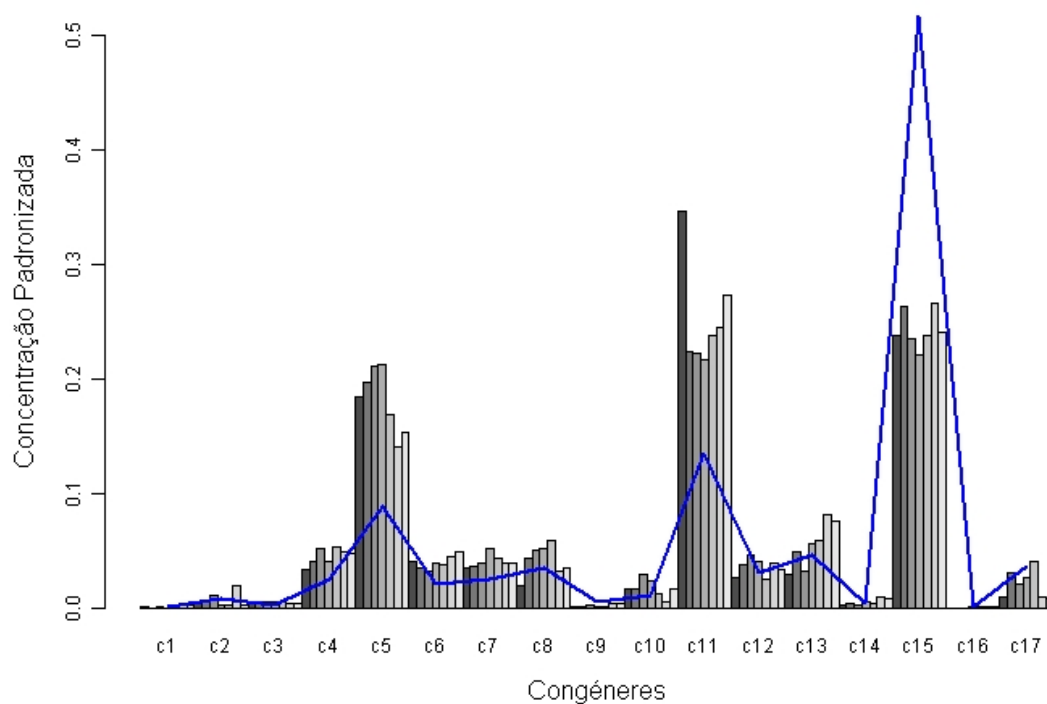
A comparação destes dois perfis apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 18 - Comparação aves cluster 4 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,16$ e $dp=0,07$.



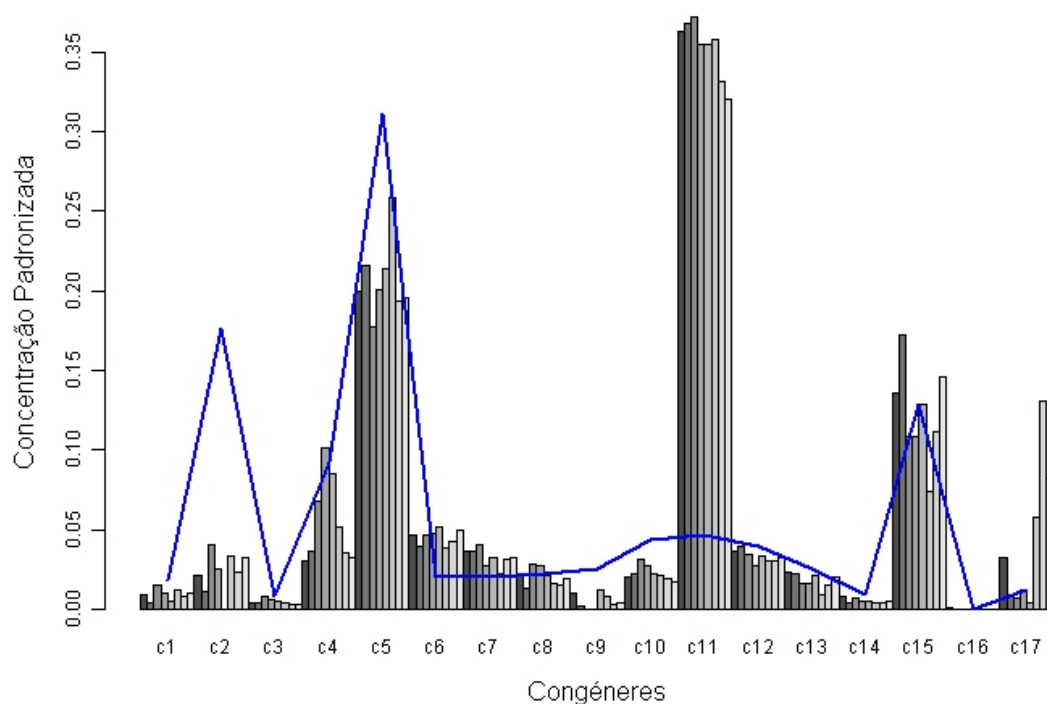
A comparação destes dois perfis também apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 19 - Comparação aves cluster 4 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,6$ e $dp=0,08$.



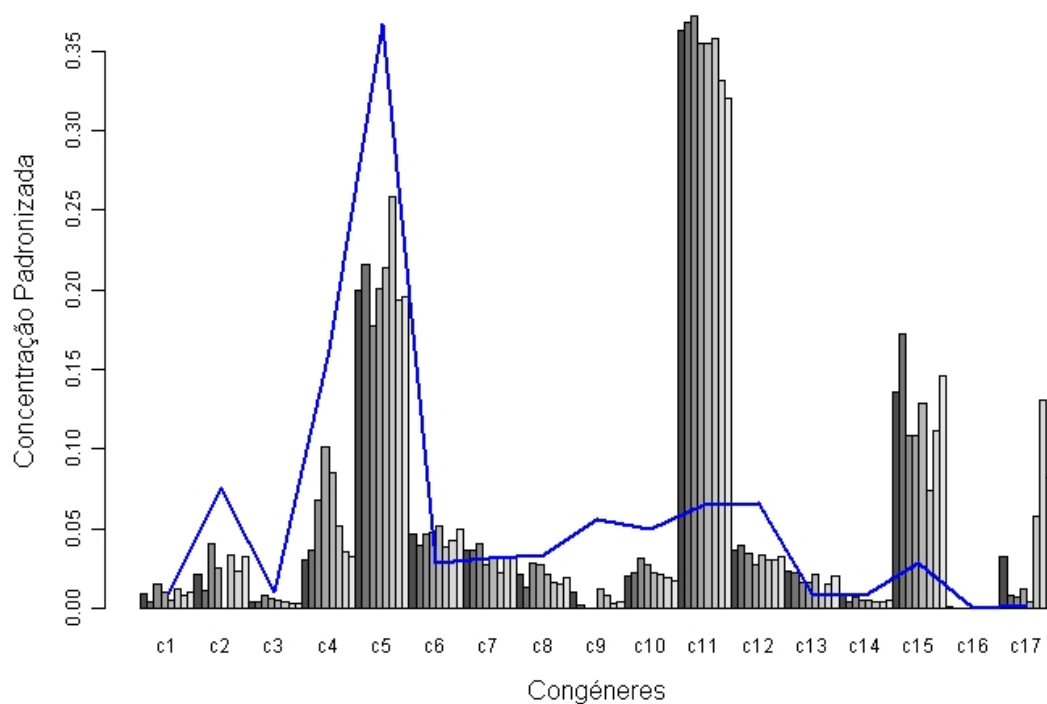
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação que não é tão expressiva como a coincidência gráfica dos picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C5, C11 e C15. Nota-se, no entanto que o comportamento gráfico das concentrações relativas dos diferentes congêneres de dioxina em cada matriz, apresenta expressões comparativas diferentes.

Gráfico 20 - Comparação aves cluster 5 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul). $r^2=0,19$ e $dp=0,03$.



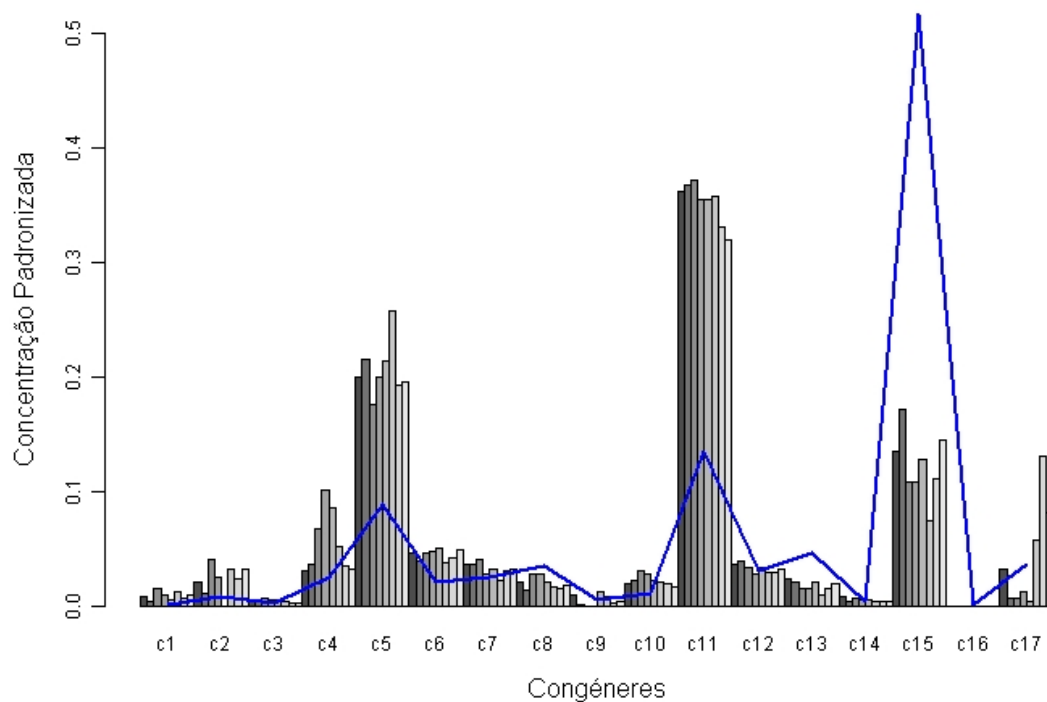
A comparação destes dois perfis apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 21 - Comparação aves cluster 5 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,22$ e $dp=0,05$.



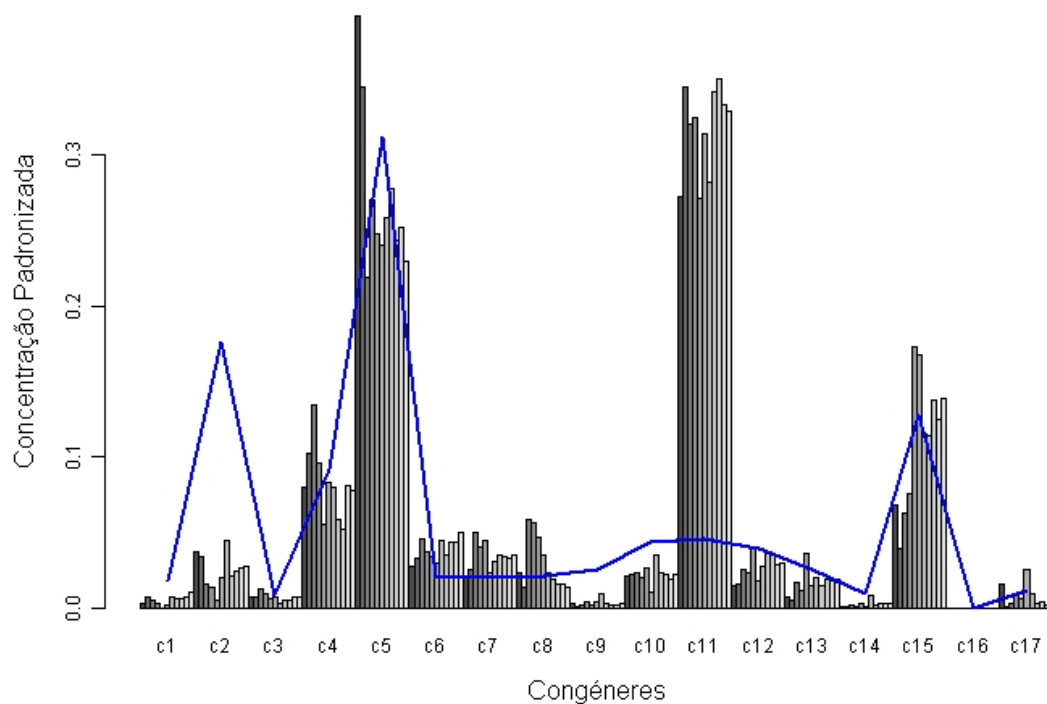
A comparação destes dois perfis também apresenta uma correlação baixa porque os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 22 - Comparação aves cluster 5 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,19$ e $dp=0,06$.



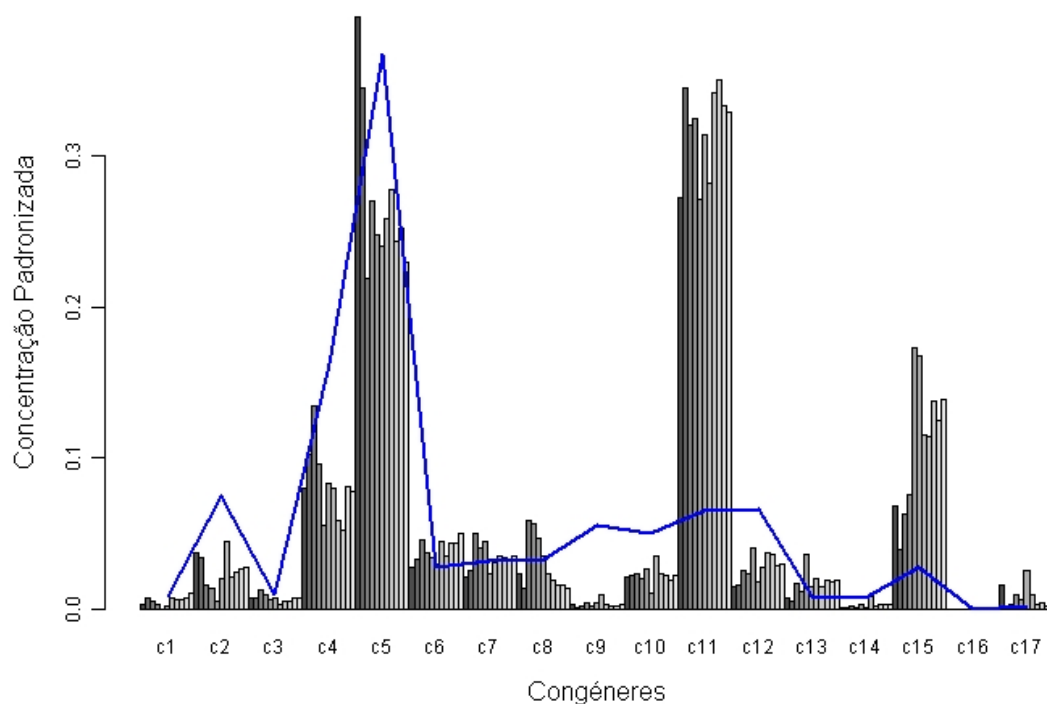
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação que não é tão expressiva como a coincidência gráfica dos picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C5, C11 e C15. Nota-se, no entanto que o comportamento gráfico das concentrações relativas dos diferentes congêneres de dioxina em cada matriz, apresenta expressões comparativas diferentes.

Gráfico 23 - Comparação aves cluster 6 (barras) com as médias das camas do cluster 1 (linha azul). $r^2=0,34$ e $dp=0,09$.



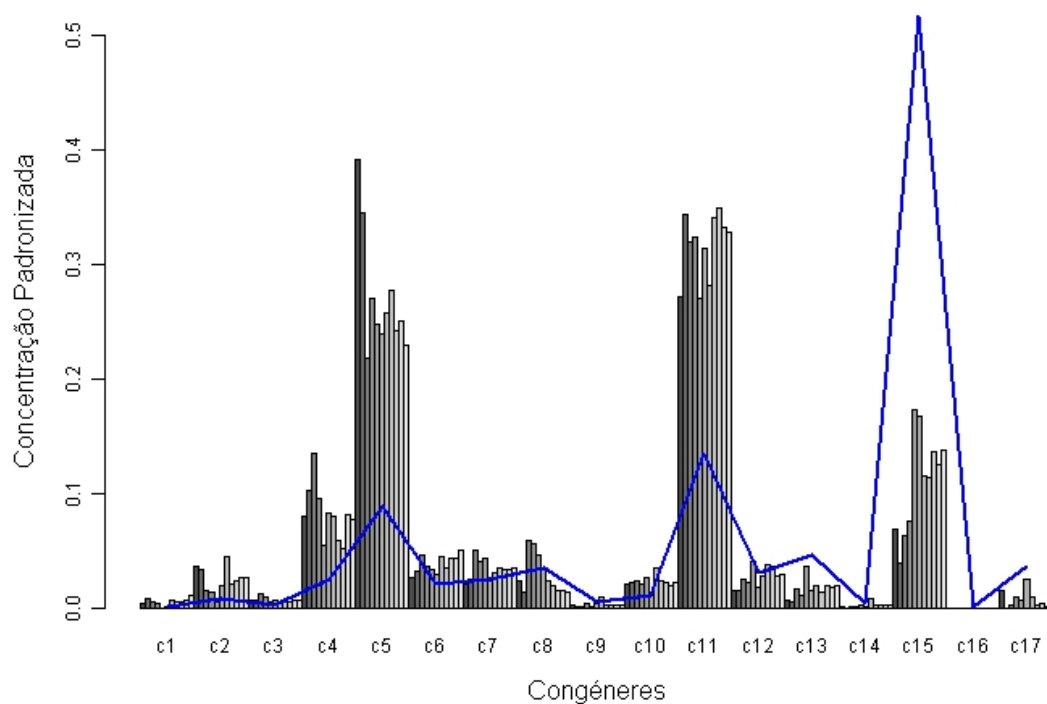
A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação, no entanto os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 24 - Comparação aves cluster 6 (barras) com as médias das camas do cluster 2 (linha azul). $r^2=0,41$ e $dp=0,11$.



A comparação destes dois perfis também apresenta alguma correlação, no entanto os picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas também não coincidem na totalidade com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves.

Gráfico 25 - Comparação aves cluster 6 (barras) com as médias das camas do cluster 3 (linha azul). $r^2=0,17$ e $dp=0,09$.



A comparação destes dois perfis apresenta alguma correlação que não é tão expressiva como a coincidência gráfica dos picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congêneres C5, C11 e C15. Nota-se, no entanto que o comportamento gráfico das concentrações relativas dos diferentes congêneres de dioxina em cada matriz, apresenta expressões comparativas diferentes.

Quadro 11 - Resumo da comparação dos padrões do perfil da contaminação por dioxinas das camas e da carne das aves.

Comparação	Correlação média (r2)	Desvio padrão
Ave 1 Cama 1	0,02	0,00
Ave 1 Cama 2	0,00	0,00
Ave 1 Cama 3	0,70	0,06
Ave 2 Cama 1	0,04	0,05
Ave 2 Cama 2	0,03	0,04
Ave 2 Cama 3	0,41	0,12
Ave 3 Cama 1	0,49	0,01
Ave 3 Cama 2	0,47	0,04
Ave 3 Cama 3	0,35	0,07
Ave 4 Cama 1	0,25	0,08
Ave 4 Cama 2	0,16	0,07
Ave 4 Cama 3	0,60	0,08
Ave 5 Cama 1	0,19	0,03
Ave 5 Cama 2	0,22	0,05
Ave 5 Cama 3	0,19	0,06
Ave 6 Cama 1	0,34	0,09
Ave 6 Cama 2	0,41	0,11
Ave 6 Cama 3	0,17	0,09

3. 5. Avaliação geral

Como consequência dos resultados obtidos a partir das amostras colhidas e para dar cumprimento à Recomendação da Comissão 2004/705/CE, de 11 de Outubro, que estabelece um programa relativo à monitorização dos níveis de base de dioxinas, furanos e PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios, a exploração que apresentou resultados acima do limite admitido foi colocada sob vigilância e foram efectuadas novas colheitas oficiais. Das 5 amostras de músculo de frango colhidas na mencionada exploração obtiveram-se os seguintes resultados: 7,05; 10,15; 7,08; 13,32 e 5,71 pg PCDD/F-TEQ-WHO/g de gordura.

Tendo em consideração os resultados obtidos e o estabelecido na segunda recomendação da Recomendação da Comissão 2002/201/CE de 4 de Março, relativa à redução de Dioxinas, Furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios, para os casos em que se verifiquem níveis de dioxinas superiores aos níveis de acção especificadas nos seus anexos I e II, a Autoridade Competente determinou o sequestro dos três bandos da exploração e iniciou investigações para identificar a fonte de contaminação.

Com este objectivo foram também colhidas amostras a todos os ingredientes e matérias-primas usadas no fabrico das rações ministradas aos frangos e materiais usados nas camas. Assim, procedeu-se à realização de colheitas em triplicado, de alimentos compostos, músculo e camas em amostras compostas de cada um dos três pavilhões existentes na exploração.

Os resultados destas amostras de músculo foram de 8,18; 7,55 e 21,11 pg PCDD/F-TEQ-WHO/g de gordura.

Tendo em conta que os resultados laboratoriais obtidos naquela exploração excediam o limite estabelecido no Regulamento n.º 2375/2001 de 29 de Novembro, determinou-se que fossem abatidos compulsivamente todos os frangos existentes na exploração, e os subprodutos gerados encaminhados para uma Unidade de Transformação de Subprodutos da Categoria I, pelo facto destes subprodutos serem classificados como categoria I ao abrigo da alínea c) do n.º 1 do artigo 4.º do Regulamento 1774/2002 de 3 de Outubro.

Os resultados das amostras do alimento composto colhidas na exploração revelaram valores 0,11; 0,412 e 0,092 pg PCDD/F-TEQ-WHO/g, inferiores aos estipulados na Directiva n.º 2002/32/CE, o que descartou a hipótese da fonte de contaminação do músculo ser o alimento dado às aves.

Os resultados laboratoriais das camas, revelaram teores de 29,2; 111,1 e 75,6 pg PCDD/F-TEQ-WHO/g que são muito elevados, indiciando que a provável fonte de contaminação das carnes, seriam as aparas de madeira e serradura utilizadas, pelo produtor, nas camas das aves.

4. Discussão

O tema desta dissertação foi suscitado por um problema concreto e desenvolvido em cenário real, embora com múltiplos condicionalismos de ordem metodológica e financeira.

Por um lado o número de amostras a colher e a analisar não podia ultrapassar os limites da capacidade de execução do laboratório; Por outro, após a identificação da origem do problema foi possível intervir no sistema de produção e alterar e eliminar definitivamente as fontes de contaminação e conseguir assim resultados sistematicamente abaixo do limite máximo admitido para o valor TEQ estabelecido.

Os materiais de cama analisados eram constituídos por aparas de pinho e serradura de madeira de casca de pinheiro, com sinais evidentes de terem sido obtidos de árvores que teriam ardido provavelmente durante os “fogos de Verão”. Neste pressuposto e conhecendo-se as práticas usuais de utilização sistemática de aparas de madeira no manuseio produtivo das aves de criação intensiva, configurou-se uma situação de emergência sanitária cujos contornos podiam não estar cabalmente definidos.

Considerando que, na generalidade, os avicultores utilizam este tipo de materiais na produção de aves, podendo por isso ser um problema com amplitude nacional, desenvolveu-se o já referido programa designado por “Plano de Acção das Dioxinas”, com o objectivo de confirmar a suspeita da origem das contaminações e obter uma redução efectiva da ocorrência de dioxinas em carnes de aves.

A metodologia utilizada para controlar a contaminação da cadeia alimentar com dioxinas, não teve em consideração a representatividade dos bandos relativamente ao efectivo nacional. As razões que justificam este delineamento experimental adoptado prendem-se com factores exógenos ao próprio plano de acção, como por exemplo as limitações impostas pela capacidade analítica do Laboratório, como já foi referido. Efectivamente o laboratório nacional que efectua as determinações de dioxinas em matrizes alimentares tem uma capacidade máxima instalada para cerca de uma dezena de amostras por semana mas cujo custo é excepcionalmente elevado. Ou seja, uma das maiores limitações à extensão do Plano foi a disponibilidade de recursos laboratoriais a custos comportáveis.

O conjunto de resultados obtidos permitem inferir que a origem das contaminações das camas de aves, foi com elevada probabilidade, as aparas de madeira usadas nas camas das aves, e que os animais ingerem em algumas fases do respectivo desenvolvimento. Contudo o facto de algumas amostras colhidas em pintos do dia terem revelado contaminações elevadas sugere que a contaminação pode provir do vitelo nutritivo do ovo, por intermédio da contaminação das progenitoras.

O facto de os valores mais elevados terem sido detectados em músculo de pato pode ser consequência de uma maior sensibilidade desta espécie ou da sua eventual incapacidade de metabolização das dioxinas assimiladas (Eisler, 1986).

Os factos descritos e apurados nesta dissertação tiveram uma execução sequencial que decorreu da obtenção sucessiva de resultados positivos em amostras colhidas aleatoriamente em diferentes matadouros de aves nacionais.

O primeiro caso descrito neste trabalho surgiu em frangos de engorda na região do Ribatejo e Oeste e em face dessa primeira situação, e com a finalidade de avaliar a dispersão do incidente pelas várias espécies produtoras de carne a nível nacional, os serviços oficiais iniciaram diligências em Janeiro de 2006 solicitando que fossem efectuadas colheitas nas explorações avícolas, de duas amostras de músculo de frango, duas amostras de músculo de peru, uma amostra de músculo de codorniz e duas amostras de músculo de pato.

Em Fevereiro de 2006, os serviços oficiais solicitaram a colheita de amostras na região da Beira Litoral, em explorações avícolas, de duas amostras de músculo de frango e duas amostras de músculo de peru. Também foi enviado aos serviços da região de Entre Douro e Minho, um pedido de colheita de amostras de músculo de frango que foram obtidas em quatro explorações avícolas.

Em Junho de 2006, foi solicitado à Direcção Regional de Agricultura do Alentejo a colheita de duas amostras de músculo de frango, uma amostra por exploração, duas amostras de músculo de peru, uma amostra de músculo de codorniz e uma amostra de músculo de pato.

Neste estudo, os teores de dioxinas que foram encontrados nas aves reprovadas, oscilaram entre 4,4 e 77,9 pg de PCDD/F-TEQ/g de gordura. Estes valores são bastantes superiores aos que foram encontrados em planos de monitorização de dioxinas em carnes de aves de diferentes idades nos Estados Unidos (Ferrario *et al.*, 1997). Os teores de PCDD/F-TEQ/g de gordura detectados nas aves portuguesas são, no entanto, bastante inferiores aos que foram encontrados nas carnes dos frangos durante a crise das Dioxinas que ocorreu na Bélgica no início de 1999 que apresentaram valores 100 vezes superiores aos limites máximos estabelecidos (Bernard, *et al.*, 2002; Schepens *et al.*, 2001). Os resultados dos estudos nas aves da crise belga revelavam expressão lesional aguda nas aves e promoviam o aparecimento diversas infecções oportunistas, devido à imunossupressão induzida pela intoxicação aguda (Baccarelli *et al.*, 2002; Vellinga e van Loock, 2002).

Os resultados positivos, obtidos nas colheitas efectuadas no âmbito do Plano de acção, que revelaram teores superiores a 2 pg PCDD/F-TEQ-WHO/g de gordura estipulados pelo Regulamento (CE) nº 2375/2001 de 29 de Novembro de 2001, implicaram a tomada de

medidas nas explorações de origem. Ou seja, as explorações atingidas foram colocadas sob vigilância e sujeitas a restrições relativas à colocação de produtos no mercado.

Para isso foram enviados, após conhecimento dos resultados laboratoriais positivos, ofícios-notificação dirigidos a cada proprietário ou representante legal das explorações positivas e às Direcções Regionais de Agricultura responsáveis pela tutela desta matéria na região em que estava sediada cada exploração.

Neste contexto cada avicultor foi informado dos níveis de dioxinas detectados na amostra da sua exploração, a que se seguiu a implementação da restrição. Os operadores foram ainda informados que estavam obrigados a comunicar à autoridade competente, a data e o matadouro onde pretendia abater os animais para destruição. Alternativamente, podiam ser colhidas amostras para pesquisa de dioxinas a expensas do interessado, aguardando as carcaças retidas (congeladas) até conhecimento dos respectivos resultados laboratoriais. Sendo que as carcaças só poderiam ser aprovadas para consumo, no caso de os resultados revelarem teores de dioxinas abaixo do legalmente estipulado. Também foi determinado que se efectuasse um inquérito epidemiológico à exploração com o objectivo de averiguar a fonte de contaminação com perícia das aves vivas e respectiva cama.

Foi também imposta a obrigatoriedade da retirada do mercado dos produtos pertencentes ao mesmo lote monitorizado e que ainda se encontravam no circuito da comercialização, ao abrigo do artigo 19º do Regulamento (CE) nº 178/2002 de 28 de Janeiro;

Das colheitas efectuadas nas explorações colocadas sob vigilância, as que apresentaram resultados positivos foi solicitado, à Direcção Regional de Agricultura da área da exploração que notificasse o proprietário, para proceder à eventual destruição/eliminação de todas as aves existentes na exploração como subproduto de origem animal da categoria 1, conforme classificação que lhe é dada pelo nº 1 do artigo 4º do Regulamento (CE) nº 1774/2002, de 3 de Outubro. O proprietário poderia alternativamente abater os animais sob controlo oficial, desde que indicasse a data e o matadouro onde pretendia abater os animais, devendo ser colhidas amostras pelos serviços oficiais para pesquisa de dioxinas a expensas do próprio. Ficando as carcaças retidas (congeladas) até conhecimento dos resultados laboratoriais.

Esta possibilidade de analisar outra vez as carcaças, ou seja, sujeitar a decisão sobre o destino a dar às carnes que já têm um primeiro resultado positivo a um segundo resultado laboratorial, assentou no pressuposto de que a concentração de dioxinas se reduz, devido ao efeito de diluição consequente do crescimento rápido dos animais.

De facto, os resultados também sugeriram, embora não tenha sido possível encontrar uma correlação matemática robusta, que à medida que os animais aumentavam de peso, diminuía a concentração de dioxinas na carne das aves. Contudo, há autores que verificaram que não

havia qualquer depleção das dioxinas em estudos em frangos, efectuados ao fim de 8 e de 14 semanas com dieta controlada (Pirard e Pauw, 2004).

Foi com base neste pressuposto que as autoridades concederam autorização aos operadores para realizar, a suas expensas, análises ao produto final (carcaças de aves).

Os teores de dioxinas detectados nas matérias-primas usadas no fabrico de rações revelaram ser sistematicamente inferiores aos limites de desempenho do procedimento analítico. Contudo, pelo facto destes contaminantes terem efeitos acumulativos, a permanente exposição a doses muito baixas poderia traduzir-se num situação de expressão analítica acima dos valores do limite de desempenho. Seguindo esta linha de raciocínio, o teor de dioxinas deveria aumentar na gordura das aves à medida que estas iam envelhecendo. Ora, esse fenómeno não foi observado. O que aconteceu foi precisamente o contrário, o teor de dioxinas foi sempre mais elevado nas aves jovens do que nas aves mais idosas.

Atendendo a que, em termos de segurança alimentar, o valor da contaminação dos tecidos edíveis no momento a que se destinam à alimentação humana tem primazia e que os limites legalmente estipulados se referem a carne de aves, os serviços oficiais consideraram a hipótese de testar os animais com a idade de abate, a fim de confirmar esta diluição, não tendo sido verificado este cenário em apenas um caso.

Da investigação das camas dos animais surgiu um novo dado, um resultado de 106.6 pg TEQ/g, revelando contaminações em materiais constituídos por aparas novas de pinho visivelmente limpas de pontas queimadas.

Este resultado levantou a possibilidade da contaminação da cama se efectuar não só pela queima, durante os fogos de verão, mas eventualmente pelo tratamento das madeiras com pentaclorofenol, ou pela absorção da seiva do pinheiro de solos muito contaminados.

Na sequência deste resultado os serviços oficiais estabeleceram uma estratégia que integrava três componentes principais:

- Investigações sobre a origem das aparas de madeira das camas. Por se ter constatado que a indústria da madeira e do mobiliário é o principal fornecedor da matéria prima que entra na composição tanto das camas das aves, como do combustível utilizado nas caldeiras de aquecimento de alguns pavilhões avícolas,
- Sensibilizar os produtores avícolas para o risco que a utilização de aparas de madeira contaminadas representa para a segurança das carnes e dos consumidores. Para esse efeito seriam contactadas as associações de produtores avícolas para que estes divulgassem a informação pelos seus associados e elaborado um comunicado aos avicultores sobre o risco para a

saúde pública do consumo de carnes contaminadas com dioxinas, a via de contaminação, a necessidade de serem encontradas matérias primas alternativas para as camas das aves e as medidas legais de gestão de risco que estavam implementadas pela autoridade competente.

- Solicitar complementarmente a colaboração da Inspeção Geral do Ambiente e Ordenamento do Território (IGAOT) para a realização de um conjunto de acções inspectivas ao sector da indústria da madeira para apurar a origem das madeiras utilizadas, os tipos de tratamentos químicos e térmicos que sofriam, bem como as condições e a forma de separação dos subprodutos e resíduos da madeira, respectiva armazenagem e correcto encaminhamento daqueles resíduos da indústria da madeira para avaliação da possibilidade de, após a adopção de determinadas medidas, os subprodutos da madeira poderem voltar a ser utilizados na produção avícola.

A Comissão Europeia foi informada, numa base regular, sobre a evolução dos resultados e aplicação do Plano.

Foram efectuados contactos com as associações do sector avícola no sentido de comunicar a possibilidade de as camas utilizadas na produção das aves poderem representar a maior fonte de contaminação das aves pelas dioxinas e nessa conformidade foi efectuado um comunicado (Anexo 4) ao sector avícola de modo a sensibilizar os intervenientes sobre a necessidade de se utilizar outro tipo de material nas camas, tais como casca de arroz e palha traçada. O sector avícola tomou de imediato medidas para alterar os materiais utilizados na composição das camas para a produção de aves, tendo os avicultores começado a utilizar materiais alternativos, como casca de arroz e palha traçada, com os prejuízos que esta alteração implica, não só para o sector avícola no que respeita aos custos associados a essa alteração em termos financeiros e de escassez de materiais alternativos em quantidade suficiente para abastecer o sector e dos circuitos de fornecimento, como para o sector da madeira em termos de escoamento dos subprodutos daquela actividade. Tal facto determinou que a Autoridade competente despoletasse um contacto com a Inspeção-Geral do Ambiente e do Ordenamento do Território (IGAOT).

O IGAOT mostrou-se receptivo à colaboração com a Autoridade Sanitária Veterinária, realizando para isso várias acções em empresas, fundamentalmente, as unidades pertencentes ao subsector da serração e da impregnação de madeiras (conservação).

No âmbito destas acções, e tendo em conta principalmente os interesses da avicultura nacional, foi dado particular destaque à gestão dos resíduos resultantes da actividade madeireira, nomeadamente os resíduos de madeira das operações de descasque e serragem na forma de

rolaria ou de várias operações de corte e polimento da madeira previamente tratada com produtos conservantes (antifúngicos).

Segundo o IGAOT, em determinados casos não foi verificado que os responsáveis dos estabelecimentos industriais efectuassem uma separação clara dos resíduos da madeira tratada dos restantes subprodutos de madeira. Noutros casos, mesmo havendo separação dos resíduos dos subprodutos, verificou-se que o encaminhamento destes é feito misturado para os mesmos destinos finais, nomeadamente as explorações avícolas.

Deste modo os resíduos de madeira não tratada, tratada e queimada poderiam ser frequentemente encaminhados para explorações avícolas. Estudos efectuados no Canadá detectaram proporções de congéneres, na carne de aves, semelhantes às proporções encontradas nas aparas de madeira tratada com PCP (Ryan *et al.*, 1985)

Os resíduos resultantes do descasque e corte da madeira sem tratamento (costaneiros, casca, serradura e serrim) eram em regra enviados para explorações avícolas, para a composição das camas dos aviários ou para a queima nas caldeiras de aquecimento.

Apesar da maior parte destes resíduos terem origem em madeira não tratada, verificou-se também ser frequente o recurso a madeira queimada, proveniente de fogos florestais, a qual, devido à sua origem, pode conter substâncias precursoras de dioxinas e furanos, na medida em que para além das fontes antropogénicas, os fogos florestais constituem uma fonte natural de emissão de PCDD e PCDF para o meio ambiente.

As madeiras transformadas também geram enormes quantidades de dioxinas quando queimadas e nas quais, os congéneres penta e hexa CDD contribuem mais para o valor TEQ total (Muto e Sugawara, 2001).

Além disso, de forma a dotar a madeira de maior resistência e durabilidade é feito um tratamento por impregnação com agentes antifúngicos (Figura 10), tendo sido identificado o uso das denominações comerciais *Celcure CC50*, *Celcure AC-800*, *Sinesto B* e *Xilotec Na*. Na composição destes produtos estão substâncias como o aminoetanol, benzilamónio clorado, pentaclorofenato de sódio, cloreto de trimetilcocoamónio, sódio etilhexanoico e bórax.

A falta de documentos de acompanhamento deste tipo de material desde a serração até à exploração avícola, nomeadamente as guias de acompanhamento de “resíduos”, impede a identificação dos diferentes destinos finais dados aos resíduos, pelo que não pode ser determinado o número exacto e a quantidade de explorações que cada serração fornecia, bem como o tipo de resíduos que eram encaminhados.

A frequente utilização das aparas de madeira para produção de calor em aquecedores por combustão e a possibilidade de haver maus isolamentos do escoamento dos gases, levou os serviços oficiais a efectuar, em colaboração com o Instituto do Ambiente, análises da atmosfera ambiente de dois pavilhões utilizados na produção de aves para avaliar a

possibilidade do ambiente do pavilhão estar a servir de fonte de contaminação das aves. Estes resultados apresentaram resultados negativos e assim foi excluída esta possibilidade.



Figura 10 – Aspecto das diferentes operações executadas nas unidades de serração (Fotografias cedidas pelo IGAOT).

Na sequência das medidas tomadas pelos produtores avícolas, que suspenderam a utilização de aparas de madeira e serrim na produção avícola e iniciaram a utilização de casca de arroz e palha triturada, considerou-se haver a necessidade de efectuar também colheita de casca de arroz para análise. Neste sentido os serviços oficiais solicitaram a colheita de amostras oficiais deste material, a fim de identificar o nível de contaminação destas matérias de substituição.

Foram efectuadas 5 colheitas de casca de arroz utilizadas nas camas das aves. Surpreendentemente uma destas amostras revelou-se positiva com um valor da ordem dos 4,4 pg WHO-TEQ/g. Este valor pode, dada a altura da colheita, ser justificado pela deposição atmosférica das partículas resultantes dos incêndios de verão, ou resultado mesmo das queimadas usualmente praticadas nos canteiros dos arrozais após as colheitas de Outono que, em 70% das situações se podem depositar a mais de 100 Km da fonte de libertação (Lohman e Seigneur, 2001).

Uma possível fonte de contaminação da madeira poderá ser o próprio solo no qual as árvores se desenvolvem, atendendo à semi-vida dos PCDD e PCDF na natureza e a sua provável absorção pela seiva das plantas. Os sucessivos incêndios ocorridos na floresta portuguesa nos últimos anos podem ter um eventual efeito acumulativo nos solos. A detecção de palha de arroz contaminada pode ser um claro indício. Esta via carece de estudos mais aprofundados.

Relativamente à eficácia do “Plano de Acção” verifica-se que decorridos três anos sobre a detecção dos primeiros casos, ainda existem escassas situações de positividade. Ou seja, o plano concebido não permitiu obter resultados categóricos na contenção do perigo sanitário.

As razões da não completa eficácia do procedimento instituído, decorrem do facto de se estar a lidar com fenómenos naturais absolutamente aleatórios cujo controlo não pode ser absoluto. Esse é provavelmente o motivo pelo qual a legislação europeia propõe uma moratória de redução das ocorrências de forma faseada no tempo e não uma redução a zero.

Quanto às medidas tomadas, considera-se que foi identificada a fonte de contaminação das carnes e levadas a cabo uma série de iniciativas com a cooperação do sector produtivo e dos organismos oficiais com competência em matérias ambientais complementares nas medidas de luta contra a contaminação ambiental e atingiu-se uma redução efectiva dos casos positivos, prevendo-se uma evolução temporal positiva dos resultados, para valores inferiores ao Limite Máximo Admitido.

A implementação das medidas ao nível das explorações avícolas teve de ser complementada com outras no sector da produção de subprodutos da indústria da madeira, nomeadamente ao nível da gestão dos subprodutos e dos resíduos gerados por essas indústrias.

O impacto de contaminações ambientais na segurança sanitária dos produtos animais tem sido avaliada sob diversas perspectivas (NETCEN, 2006) sem nunca tomar, no entanto, em consideração a relevância dos fogos florestais e das madeiras ardidas na contaminação dos animais e da cadeia alimentar.

Consideramos que em Portugal e nos outros EM a situação relativamente ao grau de contaminação dos outros animais e produtos de origem animal é relativamente desconhecida, por falta de representatividade das amostragens obrigatórias e previstas na legislação europeia.

A EFSA editou, em 2004, um documento no qual aborda a questão da avaliação de risco de intoxicação por dioxinas nos consumidores expostos de diferentes modos (EFSA, 2004), no entanto não contém dados relativos a Portugal e não consegue caracterizar os níveis de exposição nos outros EM.

A análise estatística dos dados permite inferir que os dois primeiros perfis de contaminação das camas das aves que foram encontrados, apresentaram uma correlação baixa com os perfis de contaminação das carnes das aves.

Está demonstrado que existe uma diferente contaminação de acordo com a espécie de árvore ardida, atendendo também à quantidade de resina existente na mesma (Gullett e Touati, 2003).

O terceiro perfil de contaminação das camas, que englobava as amostras que apresentaram resultados superiores a 2 pg WHO-TEQ/g, revelou uma correlação aceitável com os vários perfis de contaminação das carnes.

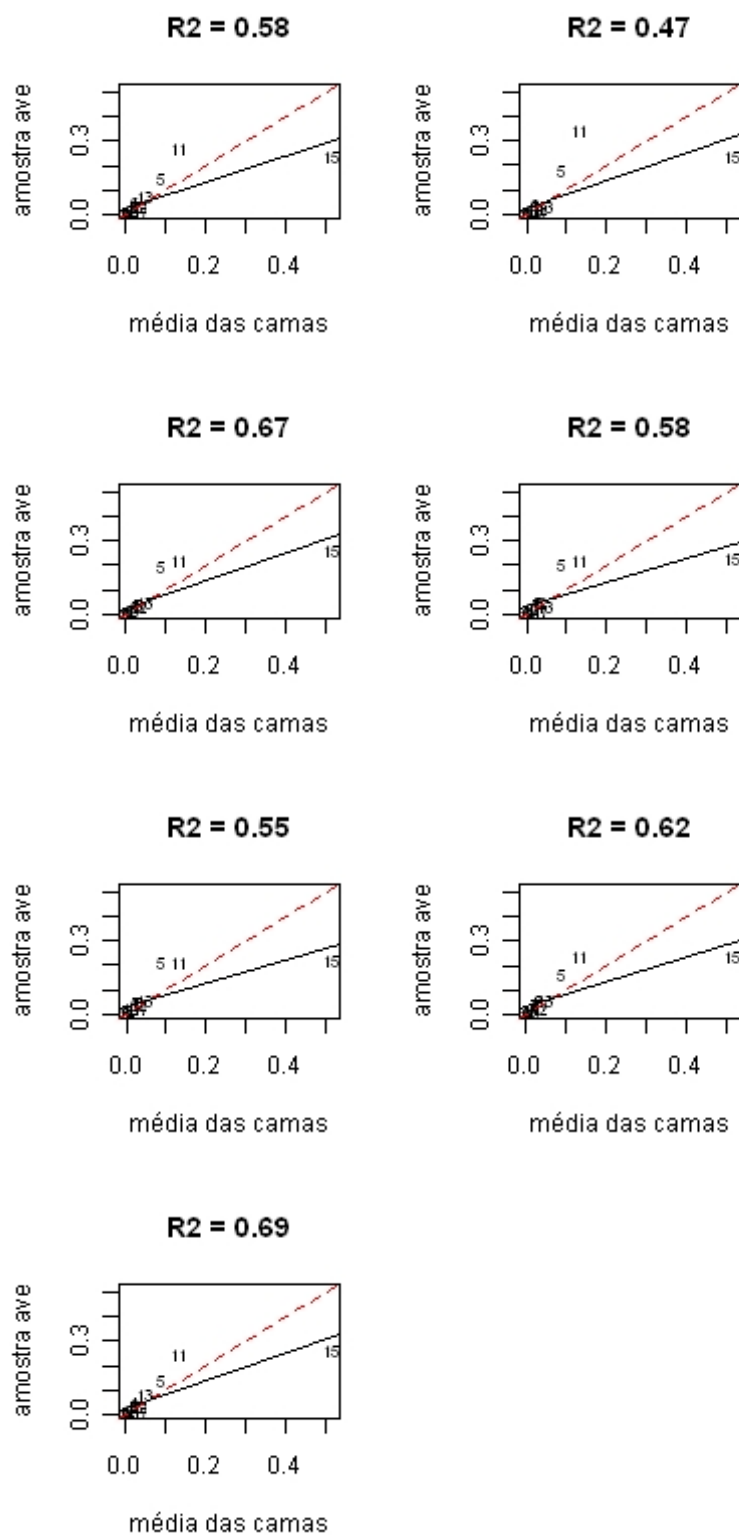
Uma das evidências mais óbvias da origem da contaminação é o facto de nos aviários onde se passaram a utilizar camas comprovadamente negativas (sem dioxinas), não se encontraram mais contaminações nas carnes de aves.

A comparação destes perfis apresenta uma correlação que não é tão expressiva como a coincidência gráfica dos picos de maior concentração relativa nas amostras do perfil das camas com os picos de maior concentração relativa das amostras do perfil das carnes das aves, nomeadamente no que respeita às concentrações relativas dos congéneres C5 (1,2,3,7,8-PeCDD), C11 (1,2,3,6,7,8-HxCDD) e C15 (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD).

A medida r^2 traduz, em média para cada cluster, o quanto da variabilidade dos congéneres das aves é explicada pela variabilidade dos congéneres das camas. Por outras palavras, o r^2 quantifica a associação linear entre os congéneres das aves e das camas. O gráfico 26 ilustra a representação do r^2 . Os pontos no gráfico representam os valores dos congéneres do *cluster* 4 das amostras das aves comparativamente à média dos congéneres das camas do *cluster* 3. O valor do r^2 do *cluster* 4 das aves com o cluster 3 das camas é dado pela média de cada um dos r^2 apresentados abaixo. Observa-se que o congénere 15 é, em geral, o que torna o valor do r^2

abaixo de 1. É o C15 que traz a reta de cor preta para longe da reta vermelha pontilhada que representa o valor de $r^2=1$.

Gráfico 26 - Amostras Cluster Aves 4 com Média das Camas do Cluster 3 ($R^2=0.60$)



Sugere-se que esta medida estatística não seja a única informação para determinar a fonte de contaminação, pois nota-se que o comportamento gráfico das concentrações relativas dos diferentes congéneres de dioxina em cada matriz, apenas apresenta expressões comparativas diferentes. Esta diferença de amplitude relativa dos picos dos mesmos congéneres nas amostras de camas e de carne de aves poderá eventualmente ser explicado pela acumulação ao longo do tempo ou por haver maior afinidade dos receptores celulares para os congéneres C5 (1,2,3,7,8-PeCDD) e C11 (1,2,3,6,7,8-HxCDD) ou ainda devido a uma maior capacidade de metabolização do congénere C15 (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD). Um autor defende que nos frangos, a absorção dos congéneres não está relacionada com a posição do cloro como acontece nos bovinos em que se verificou uma absorção favorável para os congéneres com o cloro nas posições 2, 3, 7 e 8 (Pirard e Pauw, 2004).

Finalmente a questão da eventual exposição de alguns consumidores, através do consumo de carnes de aves contaminadas e respectivo impacto na saúde não parece ter de facto relevância directa.

Os valores encontrados podem não significar que a TDI recomendada tenha sido superada. De facto, o risco de exposição humana às dioxinas não é apenas resultante da contaminação de um ingrediente da respectiva dieta, mas sim de um somatório de todas as contaminações que ocorrem na totalidade dos alimentos ingeridos, quer sejam de origem animal quer provenham dos ingredientes vegetais. Por este motivo torna-se extremamente difícil elaborar avaliações quantitativas para caracterizar o risco sanitário que decorre da ingestão de alimentos contaminados.

Os valores encontrados num estudo de cooperação científica entre dez EM, encomendado pela Comissão Europeia, “EU Scoop” (Scientific Cooperation “Assessment of Dietary Intake of Dioxins and Related PCBs by the Population of EU Member States”), que tentou caracterizar a exposição naqueles países, concluiu que os grupos de alimentos que mais contribuem para a exposição total dos habitantes às dioxinas, pela dieta, varia nos diferentes países (European Commission, 2000b).

5 - Conclusões

O âmbito desta dissertação centra-se num estudo de correlação entre a ocorrência de dioxinas nas carnes de aves e as possíveis fontes da sua contaminação. O trabalho efectuado revela, pela primeira vez, uma relação estabelecida em condições naturais entre a ocorrência de dioxinas numa fonte ambiental (aparas de madeira) e respectiva repercussão na segurança sanitária das carnes das aves expostas.

O estudo efectuado identificou, pela análise de todas as matérias que podiam estar na origem da contaminação e pela comparação dos perfis analíticos, relativos aos 17 congéneres de dioxinas, uma fonte de contaminação das carnes de aves.

Pode concluir-se que as aparas de madeira contendo dioxinas, utilizadas nas camas de aves são certamente uma fonte de contaminação das respectivas carnes das aves. A comparação estatística do perfil dos diferentes congéneres de dioxina nas camas e nas aves não teve por vezes uma correlação muito elevada, embora os picos dos congéneres se apresentem nos mesmos congéneres, em C5 (1,2,3,7,8-PeCDD), C11 (1,2,3,6,7,8-HxCDD) e C15 (1,2,3,4,6,7,8-HpCDD).

O facto de não se ter registado uma consistência quantitativa relativa entre os congéneres predominantes nas camas e nas carnes, pode decorrer dos seguintes factores: metabolização no organismo das aves “in vivo”; diferente afinidade lipofílica de cada congénere ou afinidade para os receptores Ah ou excreção fecal da ave (equivalente também a uma menor eventual capacidade de absorção).

Os diferentes perfis de congéneres de dioxina encontrados nas amostras de cama de aves, podem ser justificados pelas diferentes origens e natureza das aparas de madeira que são utilizadas na produção avícola. Estas resultam geralmente de subprodutos da indústria da serração, tratamentos de madeiras e produção de mobiliário.

As camas das aves podem estar contaminadas por madeiras tratadas com pentaclorofenol ou outros conservantes equivalentes. As madeiras podem vir já contaminadas a partir do meio ambiente e, neste caso, o teor de cada congénere pode variar em função da contaminação ambiental existente no local de origem da madeira ou mesmo por madeira queimada nos incêndios. Neste último caso existe uma diferente contaminação de acordo com a espécie de árvore que ardeu e, atendendo também à quantidade de resina existente na mesma.

Os múltiplos efeitos deste achado repercutiram-se a diferentes níveis, não só no sistema de gestão de aparas utilizadas nas camas das aves, mas também consequências económicas e de gestão ambiental a outros níveis. São disso exemplo a alteração que ocorreu ao nível da gestão

de resíduos da indústria da serração e do mobiliário que deixam de poder encaminhar todos os seus resíduos para a valorização em avicultura.

Outra consequência foi o sector da indústria da madeira ter decidido reformular os seus procedimentos e boas práticas, comprometendo-se a apenas disponibilizar para a produção avícola os subprodutos da madeira seguros.

No estudo em análise a possibilidade da contaminação das aves com eventuais dioxinas existentes no fumo resultante da queima de madeira e outras matérias vegetais para aquecimento dos pavilhões, depois de ter havido acesso aos resultados das análises do ar ambiente em explorações aquecidas por aquele método, foi excluída. A possibilidade da contaminação pela água e pelo alimento foi igualmente afastada pela negatividade de todas as análises efectuadas nestas matrizes, contudo as rações para animais têm de ser sempre equacionadas como uma fonte potencial de contaminação por dioxinas.

O perfil da contaminação das carnes de aves encontrou na sua generalidade concordância, em termos de distribuição dos picos dos diferentes congéneres, com o perfil encontrado nas análises das camas das aves que apresentaram maiores níveis de contaminação. Existe no entanto uma diferença na amplitude relativa dos picos respectivos que podem eventualmente ser justificados por diferentes afinidades dos receptores Ah das aves para os diferentes congéneres.

No contexto deste estudo inicial, não foi possível, pela pequena quantidade de amostras colhidas no mesmo bando, estabelecer um modelo que permita entender o mecanismo de depleção das dioxinas ao longo da vida das aves. Configura-se no entanto importante aprofundar esta via de estudo para se poder prever o tempo de diluição/eliminação da contaminação de aves com dioxinas até níveis aceitáveis, ao longo do período de produção das mesmas.

Para a evolução do conhecimento das interações da contaminação com dioxinas presentes no ambiente das explorações com as aves e para permitir a tomada de medidas para garantir a segurança das carnes, interessa, para o futuro, estudar a afinidade dos receptores celulares para cada congénere, ou seja, a metabolização das dioxinas nas aves, bem como o índice de depleção destas.

Outro dos objectivos deste trabalho era a determinação da gravidade e dispersão do incidente na avicultura portuguesa. Pelo controlo analítico efectuado no âmbito do Plano de Acção das dioxinas implementado, pode considerar-se que a situação em 2006 era preocupante porque cerca de 40% das explorações analisadas apresentaram resultados analíticos positivos na carne das aves. Esta perspectiva não pode contudo ser extrapolada para igual percentagem de carnes de aves consumidas. Esta constatação decorre do facto da contaminação ter sido detectada em amostras colhidas em aves bastante jovens (até 10 dias) e como é sabido a concentração das dioxinas vai diminuindo ao longo do tempo de produção. Neste pressuposto, grande parte das aves identificadas como positivas apresentariam resultados negativos na altura do abate.

Como objectivo final do trabalho pretendia-se que as avaliações efectuadas permitissem o estabelecimento de medidas para combater o problema de acordo com a respectiva gravidade e disposições legais aplicáveis, de forma a garantir a eliminação do perigo e diminuição do risco para a saúde pública. Neste aspecto, considera-se que as medidas de gestão de risco adoptadas para as explorações avícolas, compreendendo a implementação de procedimentos de vigilância nas explorações e destruição das aves contaminadas, bem como, as medidas tomadas junto das associações de avicultores e das autoridades ambientais, permitiram ajustamentos nos sistemas de produção, cujos reflexos se traduziram num evidente benefício para a questão da segurança sanitária das carnes de aves. Contudo, não foi devidamente analisado o prejuízo económico para o sector avícola e da indústria da madeira.

O Plano de Acção das dioxinas prossegue, permanecendo a expectativa da obtenção de mais informação para aperfeiçoamento do conhecimento científico e das medidas de gestão de risco das dioxinas na avicultura.

III. Parte - Referências bibliográficas

1 - Bibliografia

- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, (1998). Toxicological profile for chlorinated dibenzo-*p*-dioxins. U.S. department of health and human services, Atlanta, Geórgia, USA. pp 723
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, (2000). Toxicological profile for polychlorinated biphenyls (PCBs). U.S. department of health and human services, Atlanta, Geórgia, USA. pp 948
- Agency for Toxic Substances and Disease Registry, (2001). Toxicological profile for pentachlorophenol. U.S. department of health and human services, Atlanta, Geórgia, USA. pp 316
- Assunção, J., Pesquero, C., (1999). Dioxinas e furanos: origens e riscos. Revista de Saúde Pública, Universidade de São Paulo, Brasil, 33 (5). 523-530
- Baccarelli, A.; Mocarelli, Patterson Jr., D.; Bonzini, M.; Pesatori, A.C.; Caporaso, N. And Landi, M. T: (2002). Immunological effects of dioxins: new results from Seveso and comparison with other studies. Environm. Health Perspectives; 110 (12); 1163-1169
- Bernard, A.; Broeckaert, F.; Poorter, G.; Cock, A.; Hermans, C.; Saegerman, C. e Houins, G.,(2002). The Belgian PCB/Dioxin Incident: Analysis of the Food Chain Contamination and Health Risk Evaluation. Brussels, Belgium. Environmental Research 88 (1). 1-18
- Bertazzi, P., Bernucci, I., Brambilla, G., Consonni, D., Pesatori, A., (1998). The Seveso Studies on Early and Long-Term Effects of Dioxin Exposure: A Review. Milan, Italy. Environ. Health Perspectives, 106 (2). 625-633
- Blumler, P. (indeterminada). Dioxin: Seveso, Vietnam and everyday exposure. PH 307 disasters. School of Physical Sciences, University of Kent at Canterbury, United Kingdom. pp 17
- Bryant P., Schmid, J., Fenton, S., Bckalew, A., Abbott, B., (2001). Teratogenicity of 2,3,7,8- Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin (TCDD) in mice Lacking the Expression of EGF and/or TGF- α . North Carolina, USA. Toxicol. Sciences 62, 103-114.
- Buzby, J., Chandran, R., (2003). The Belgian Dioxin Crisis and Its Effects on Agricultural Production and Exports. Economic Research Service/USDA, USA. International Trade and Food safety / AER-828. 125-136
- Canadian Council of Ministers of the Environment, (2002). Canadian soil quality guidelines for the protection of environmental and Human Health: Dioxins and Furans. Quebec, Canada. pp 13
- Charnley, G., Kimbrough, R., (2005). Overview of Exposure, Toxicity, and Risks to

Children from Current Levels of 2,3,7,8-Tetrachlorodibenzo-*p*-dioxin and Related Compounds in the USA. Washington D.C., USA. pp 54

Children's Environmental Health Protection Act, (2001). Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins (PCDDs), Dibenzofurans (PCDFs) and Biphenyls (PCBs). California, USA. pp 41

Cleverly, D., Schaum, J., Schweer, G., Becker, J., Winters, D., (1997). The Congener Profiles of Anthropogenic Sources of Chlorinated Dibenzo-*p*-Dioxins and Chlorinated Dibenzofurans in the United States. presentation at Dioxin '97, the 17th International Symposium on Chlorinated Dioxins and Related Compounds, held August 25-29 in Indianapolis, USA. Short paper in, organohalogen compounds, 32. 430-435.

Comissão das Comunidades Europeias, (1997). Decisão da Comissão n.º 97/747/CE, de 27 de Outubro de 1997, que fixa o nível e a frequência de amostragem previstos pela Directiva 96/23/CE do Conselho para a pesquisa de determinadas substâncias e seus resíduos em certos produtos de origem animal. J. Of. das Comunidades Europeias L 303. 12 -15

Comissão das Comunidades Europeias, (1998). Decisão da Comissão n.º 98/179/CE, de 23 de Fevereiro de 1998, que estabelece regras para a colheita das amostras oficiais a utilizar na pesquisa de determinadas substâncias e seus resíduos nos animais vivos e respectivos produtos. J. Of. das Comunidades Europeias L 65. 31 -34

Comissão das Comunidades Europeias, (2001a). Regulamento (CE) n.º 466/2001 da Comissão, de 8 de Março de 2001, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. J. Of. das Comunidades Europeias L 77. 1 -13

Comissão das Comunidades Europeias, (2001b). Comunicação da Comissão ao Conselho, ao Parlamento Europeu e ao Comité Económico e Social Europeu (COM(2001) 593), sobre a estratégia comunitária em matéria de dioxinas, furanos e policlorobifenilos. pp 34

Comissão das Comunidades Europeias, (2002a). Directiva n.º 2002/69/CE, da Comissão, de 26 de Julho de 2002, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios. J. Of. das Comunidades Europeias L 209. 5 - 14

Comissão das Comunidades Europeias, (2002b). Recomendação da Comissão n.º 2002/201/EC de 4 de Março de 2002, relativa à redução da presença de dioxinas, furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios. J. Of. das Comunidades Europeias L 67. 69 – 73

Comissão das Comunidades Europeias, (2004a). Regulamento (CE) n.º 684/2004, da Comissão, de 13 de Abril de 2004, que altera o Regulamento (CE) n.º 466/2001 no que diz respeito às dioxinas, J. Of. da União Europeia L 106. 6 -7

Comissão das Comunidades Europeias, (2004b). Recomendação da Comissão n.º 2004/705/CE de 11 de Outubro, relativa à monitorização dos níveis de base das dioxinas e

dos PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios. J. Of. da União Europeia L 321. 45 - 52

Comissão das Comunidades Europeias, (2004c). Recomendação da Comissão n.º 2004/704/CE de 11 de Outubro, relativa à monitorização dos níveis de base das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina nos alimentos para animais. J. Of. da União Europeia L 321. 38 - 44

Comissão das Comunidades Europeias, (2006a). Regulamento (CE) N.º 199/2006 da Comissão, de 3 de Fevereiro de 2006, que altera o Regulamento (CE) n.o 466/2001 que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios relativamente às dioxinas e aos PCB sob a forma de dioxina. J. Of. da União Europeia L 32. 34 - 38

Comissão das Comunidades Europeias, (2006b). Directiva n.º 2006/13/CE, da Comissão, de 3 de Fevereiro, que altera os anexos I e II da Directiva 2002/32/CE do Parlamento Europeu e do Conselho, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais no que diz respeito às dioxinas e aos PCB sob a forma de dioxina. J. Of. da União Europeia L 32. 44-53

Comissão das Comunidades Europeias, (2006c). Regulamento (CE) n.º 1881/2006, da Comissão, de 19 de Dezembro de 2006, que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. J. Of. da União Europeia: L 364. 5-24

Comissão das Comunidades Europeias, (2006d). Recomendação da Comissão n.º 2006/794/CE, de 16 de Novembro, sobre a monitorização dos níveis de base das dioxinas e dos PCB sob a forma de dioxina e dos PCB não semelhantes a dioxinas nos géneros alimentícios. J. Of. da União Europeia: L 322. 24-31

Comissão das Comunidades Europeias, (2006e). Regulamento (CE) n.º 1883/2006, da Comissão, de 19 de Dezembro, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial dos teores de dioxinas e de PCB sob a forma de dioxina em determinados géneros alimentícios. J. Of. da União Europeia: L 364. 32-43

Comissão das Comunidades Europeias, (2006f). Recomendação da Comissão n.º 2006/88/CE, de 6 de Fevereiro, relativa à redução da presença de dioxinas, furanos e PCB nos alimentos para animais e nos géneros alimentícios. J. Of. da União Europeia: L 42. 26-28

Comissão das Comunidades Europeias, (2007). Comunicação da Comissão ao Conselho, ao Parlamento Europeu e ao Comité Económico e Social Europeu (SEC(2007)955), sobre a aplicação prática da estratégia comunitária em matéria de dioxinas, furanos e policlorobifenilos (COM (2001) 593) – segundo relatório intercalar. pp 7

Commission Internationale pour la Protection du Rhin, (2003). Upstream Outcome of the

Rhine Action Programme. pp31

Conselho das Comunidades Europeias, (1993). Regulamento (CEE) n.º 315/1993 do Conselho, de 8 de Fevereiro de 1993 que estabelece procedimentos comunitários para os contaminantes presentes nos géneros alimentícios. J.Of. das Comunidades Europeias nº L 037. 1- 3

Conselho da União Europeia, (1995). Directiva 95/53/CE do Conselho, de 25 de Outubro de 1995, que fixa os princípios relativos à organização dos controlos oficiais no domínio da alimentação animal. J.Of. das Comunidades Europeias nº L 265. 17 - 22

Conselho da União Europeia, (1996). Directiva 96/22/CE do Conselho, de 29 de Abril de 1996, relativa à proibição de utilização de certas substâncias com efeitos hormonais ou tireostáticos e de substâncias β -agonistas em produção animal e que revoga as Directivas 81/602/CEE, 88/146/CEE e 88/299/CEE. J.Of. das Comunidades Europeias nº L 125. 3 - 9

Conselho da União Europeia, (1996). Directiva 96/23/CE do Conselho, de 29 de Abril de 1996, relativa às medidas de controlo a aplicar a certas substâncias e aos seus resíduos nos animais vivos e respectivos produtos e que revoga as Directivas 85/358/CEE e 86/469/CEE e as Decisões 89/187/CEE e 91/664/CEE. J.Of. das Comunidades Europeias nº L 125. 10 - 32

Conselho da União Europeia, (1999). Directiva n.º 1999/29/CE, do Conselho, de 22 de Abril, relativa às substâncias e produtos indesejáveis nos alimentos para animais. J. Of. das Comunidades Europeias L115. 32-46.

Conselho da União Europeia, (2001). Regulamento (CE) n.º 2375/2001, do Conselho, de 29 de Novembro de 2001, que altera o Regulamento (CE) n.º 466/2001 da Comissão que fixa os teores máximos de certos contaminantes presentes nos géneros alimentícios. J. Of. das Comunidades Europeias L 321. 1 - 5

Dwernychuk, L.; Cau, H.; Hatfield, C.; Boivin, T.; Hung, T.; Dung, P.; Thay, N., (2002). Dioxin Reservoirs in Southern Viet Nam: A legacy of Agent Orange. Vancouver, Canada. Chemosphere 47. 117- 137

EFSA, (2004). Dioxins, Methodologies and principles for setting tolerable intake levels for dioxins, furans and dioxin-like PCBs. EFSA Scientific Colloquium, Summary Report. Belgium, Brussels. pp 130

Eisler R., (1986). Dioxin hazards to fish, wildlife and invertebrates: a synoptic review. Maryland, USA. Report 85. pp 24

Eisler R., (2000). Hand book of Chemical Risk Assessment, Health Hazards to Human, plants and animals. Lewis Publishers. 1021-1066

Environment Australia, (1999), Incineration and Dioxins: Review of formation processes, consultancy report prepared by Environmental and Safety Services for Environment

- Australia, Commonwealth, Department of the Environment and Heritage, Canberra, Australia. pp 42
- Environment Canada, (2003). National Science Assessment on Dioxins and Furans in the Canadian Aquatic Environment. Canada. pp 159
- Euro Chlor (2002). Risk Assessment for the Marine Environment: PCBs, DDT, Dioxins. Brussels, Belgium. pp 28
- European Commission, (2000a). Opinion of the Scientific Committee on Animal Nutrition on the Dioxin contamination of feedingstuffs and their contribution to the contamination of food of animal origin. pp 105
- European Commission, (2000b). Opinion of the Scientific Committee on Food (SCF) on the Risk Assessment of Dioxins and Dioxin-like PCBs in Food. pp 141
- European Commission, (2005). Rapid alert system for food and feed (RASFF): Annual report on the functioning of the rasff 2004. pp 38
- European Commission, (2006). The Rapid alert system for food and feed (RASFF): Annual report 2005. pp 40
- Ferrario, J., Byrne, C. ; Lorbert, M. ; Saunders, P. ; Leese, W. ; Dupuy, A. ; Winters, D.; Cleverly, D., Schaum, J.; Pinsky, P.; Deyrup, C.; Ellis, R. And Walcott, J. (1997). A statistical survey of Dioxins-Like compounds in the United States Poultry fat.; Proc. 17th Intern. Symp. On Chlorinated Dioxins and Related compounds, AUG. 25-29. Indianapolis, USA. 32; 245-251
- Fiedler, H.; Hutzinger, O.; Welsch-Pausch, K.; Schmiedinger, A., (2000). Evaluation of the Occurrence of PCDD/PCDF and POPs in Wastes and Their Potential to Enter the Foodchain. University of Bayreuth, Germany. Ecological Chemistry and Geochemistry. pp 127
- Fochi I, Brambilla G, Filippis S, Domenico A, (2006) Depletion of PCDD and PCDF Congeners in eggs following exposure of laying hens to Pentachlorophenol-contaminated wood shavings. Istituto Superiore di Sanità- Rome-Italy. Pp 3
- Fries, G., Feil, V., Zaylskie, R., Bialek, K., Rice, C., (2002). Treated wood in livestock facilities: relationships among residues of pentachlorophenol, dioxins, and furans in wood and beef. Beltsville Agricultural Research Center, USDA, Beltsville, USA. Environmental Pollution 116. 301–307
- Furue, M.; Uenotsuchi, T.; Urabe, K.; Ishikawa, T.; Kuwabara, M., (2005). Overview of Yusho. Kyusho University, Fukuoka, Japan. J. Dermatol. Sc. Suppl., 1. 3-10
- Gochfeld, M., (2001). Dioxin in Vietnam – The Ongoing Saga of Exposure. University of Medicine and Dentistry of New Jersey, USA. J. Occup. Med. 43. 433-434
- Grassman, J., Masten, S., Walker, N., Lucier, G., (1998). Animal Models of Human

Response to Dioxins. National Institute of Environmental Health Sciences, North Carolina, USA. *Environ. Health Perspectives*. 106(2). 761-775

Gullett, B., Touati, A., (2003). PCDD/F emissions from forest fire simulations. US Environmental Protection Agency, National Risk Management Research Laboratory, USA. *Atmospheric Environment* 37. 803–813

Helsinki Commission (2004). Dioxins in the Baltic Sea. Land-based Pollution Group Ninth Meeting Tallinn, Estonia. pp 16

Heuvel, J.; Lucier, G., (1993). Environmental Toxicology of Polychlorinated Dibenzo-p-Dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans. National Institute of Environmental Health Sciences, Laboratory of Biochemical Risk Analysis, USA. *Environ. Health Perspectives*, (100). 189-200

Holoubek, I., Kocan, A., Holoubkova, I., Hilscherova, K., Kohoutek, J., Falandysz, J., Roots, O., (2001). Persistent, bioaccumulative, and toxic compounds in Central and Eastern Europe – Hot spots. Varazdin, Croatia. *Arh Hig Rada Toksikol*, (52). 239-251

Hossain, A, Tsuchiya, S, Minegishi, M., Osada, M., Ikawa, S., Tezuka, F., Kaji, M., Konno, T., Watanabe, M., Kikuchi, H., (1998). The Ah receptor is not involved in 2,3,7,8-tetrachlorodibenzo-p-dioxin-mediated apoptosis in human leukemic T cell lines. Tohoku University, Japan. *J. Biol. Chem.*, 273. 19853-19858.

Bernard A., Broeckaert F., De Poorter G., De Cock A., Hermans C., Saegerman C., Houins G. (2002). The Belgian PCB/Dioxin Incident: Analysis of the Food Chain Contamination and Health Risk Evaluation. Brussels, Belgium. *Environ. Research*, (88)1. 1-18.

Huwe, J., (2002). Dioxins in Food: A Modern Agricultural Perspective. U.S. Department of Agriculture, North Dakota, USA. *J. Agric. Food Chem.* 50, 1739-1750.

Huwe, J., Feil, V., Zaylskie, R., Tiernan, T., (2000). An investigation of the in vivo formation of octachlorodibenzo-p-dioxin. U.S. Department of Agriculture, North Dakota, USA. *Chemosphere* 40. 957-962

Jensen, A., (2003). Dioxin pollution in the Baltic Sea – what have we learned? Danish EPA, Research Report No. 796. Copenhagen, Denmark. p 3

Johnson, R.; Wichern, D., (2001). Applied Multivariate Statistical Analysis. Englewood Cliffs, New Jersey. Prentice Hall, 5th ed. pp761

Kim, M., Kim, D., Yun, S., Son, S., (2007). Relationship of PCDD/Fs congener profiles between beef and raw milk in South Korea. National Veterinary Research and Quarantine Service, Gyeonggido, South Korea. *Chemosphere*, 12. pp 13

Larebeke, N.; Covaci, A.; Schepens, P.; Hens, L., (2002). Food Contamination with polychlorinated biphenyls and dioxins in Belgium. Effects on the body burden. Ghent University, Belgium. *J. Epidem. and Community Health*, 56. 828-830

Larebeke, N.; Hens, L.; Schepens, P.; Covaci, A.; Baeyens, J.; Everaert, K.; Bernheim, J.; Vlietinck, P.; Pooter, G., (2001). The Belgian PCB and Dioxin Incident of January – June 1999: Exposure data and potential impact on health. Ghent University, Belgium. *Environ. Health Perspectives*, 109. 265-273

Lavric, E., Konnov, A., Ruyck, J., (2004). Dioxin levels in wood combustion—a review. Vrije Universiteit, Brussels, Belgium. *Biomass and Bioenergy* 26. pp. 115 – 145

Lohman, K. e Seigneur, C., (2001). Atmospheric fate and transport of dioxins: local impacts. Atmospheric & Environmental Research, Inc. San Ramon, USA. *Chemosphere* (45). 161-171

Lonnermark, A., Blomqvist, P., Marklund, S., (2008). Emissions from simulated deep-seated fires in domestic waste. Technical Research Institute of Sweden, Boras, Sweden. *Chemosphere* (70). 626–639

Luscombe, D., (1999). Dioxinas e furanos: efeitos sobre a saúde humana. São Paulo, Brasil. Greenpeace. pp 19

Malisch, R., (2000). Increase of the PCDD/F-contamination of milk, butter and meat samples by use of contaminated citrus pulp. Chemische Landesuntersuchungsanstalt Freiburg, Germany. *Chemosphere*, 40. 1041-1053

McGregor, D., Partensky, C., Wilbourn, J., Rice, J., (1998). An IARC Evaluation of Polychlorinated Dibenzo-p-dioxins and Polychlorinated Dibenzofurans as Risk Factors in Human Carcinogenesis. International Agency for Research on Cancer, Lyon, France. *Environmental Health Perspectives*, 106. 755-760

Meyer, C., Beer, T, Muller, J., Gillet, R., Weeks, I., Powell, J., Tolhurst, K., McCaw, L., Cook, G., Marney, D., Symons, R., (2004). Dioxin Emissions from Bushfires in Australia, National Dioxins Program Technical Report. nº1. Ed. Australian Government Department of the Environment and Heritage, Canberra, Austrália. pp 179

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (2007). Decreto Regulamentar n.º 11/2007, de 27 de Fevereiro, que reformula a estrutura da DGV, consagrando o princípio da verticalização dos serviços veterinários, com o objectivo de integrar numa unidade hierárquica todas as actividades relacionadas com a produção animal, a protecção e promoção da saúde dos animais e a segurança sanitária dos géneros alimentícios de origem animal produzido ou introduzidos no espaço da Comunidade Europeia. *Diário da República*, 1.ª série—n.º 41. 1378-1380

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (2005). Decreto-Lei n.º 118/2005, de 18 de Julho, que transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 2004/44/CE, da Comissão, de 13 de Abril, que altera a Directiva n.º 2002/69/CE, da Comissão, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das

dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios. Diário da Rep. I série-A, n.º 136. 4291-4293

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas (2003). Decreto-Lei n.º 195/2003, de 23 de Agosto, transpõe para a ordem jurídica interna a Directiva n.º 2002/69/CE, da Comissão, de 26 de Julho, rectificada pelo Jornal Oficial das Comunidades Europeias, n.º L 252, de 20 de Setembro de 2002, que estabelece os métodos de amostragem e de análise para o controlo oficial das dioxinas e a determinação de PCB sob a forma de dioxina nos géneros alimentícios. Diário da Rep. I série-A, n.º 194. 5484-5489

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, (1999). Decreto-Lei n.º 148/99, de 4 de Maio, que estabelece as medidas de controlo relativas às substâncias e aos grupos de resíduos A e B. Diário da Rep. I série-A n.º 103. 2354 - 2370

Ministério da Agricultura, do Desenvolvimento Rural e das Pescas, (1997). Decreto-Lei n.º 106/97, de 2 de Maio, que define a natureza e as competências da Direcção Geral de Veterinária. Diário da Rep. I série-A n.º 101. 2000 - 2010

Ministério da Economia, (2000). Decreto-Lei n.º 256/2000, de 17 de Outubro, transpõe para a ordem jurídica interna as Directivas n.ºs 94/27/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 30 de Junho, 1999/43/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 25 de Maio, e 1999/51/CE, da Comissão, de 26 de Maio, relativas à limitação da colocação no mercado e da utilização de algumas substâncias e preparações perigosas. Diário da Rep. I série-A n.º 240. 5779 - 2783

Mocarelli, P., Gerthoux, P., Ferrari, E., Patterson, D., Kieszak, S., Brambilla, P., Vincoli, N., Signorini, S., Tramacere, P., Carreri, V., Sampson, E., Turner, W., Needham, L., (2000). Paternal concentrations of dioxin and sex ratio of offspring. University Milano-Bicocca, Milano, Italy. The Lancet, 355. 1858-1863

Mocarelli, P., Gerthoux, P., Patterson, D., Milani, S., Limonta, G., Bertona, M., Signorini, S., Tramacere, P., Colombo, L., Crespi, C., Brambilla, P., Sarto, C., Carreri, V., Sampson, E., Turner, W., Needham, L., (2008). Dioxin Exposure, from Infancy through Puberty, Produces Endocrine Disruption and Affects Human Semen Quality. University Milano-Bicocca, Milano, Italy. Environmental Health Perspectives. 116 (1). 70-77

Muller, P., (2002). Potential for Occupational and Environmental Exposure to Ten Carcinogens in Toronto. Toronto, Ontario, Canada. ToxProbe Inc. for Toronto Public Health. Pp 241

Muto, H., Sugawara, T., (2001). Polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzofurans in plywood combustion gas. Environmental Research Center, Akita University, Akita, Japan. Chemosphere, 45. 145-150

NETCEN (2006). A Review of the Current Source Inventories for Dioxin and Dioxin-like

PCBs for Air, Soil, & Water with view to updating Emission Factors/Estimates and Inclusion of New Sources. Final Report. Ed. AEA Technology Environment, Oxfordshire, UK; pp-79.

Okey, A.B., Riddick, D.S., Harper, P.A. (1994) The Ah receptor: mediator of the toxicity of 2,3,7,8- tetrachlorodibenzo-p-dioxin (TCDD) and related compounds (Review). University of Toronto, Toronto, Canada. Toxicology Letters 70(1): 1-22

Okubo, Y., Suwazono, Y., Kobayashi, E., Nogawa, K., (2000). Altered Sex Ratio of Offspring in Chemical Industry Workers. Chiba University School of Medicine, Chiba, Japan. J Occup Health, 42. 147–148

Otles, S., Yildiz, H., (2003). Dioxin in food and human health. Ege University, Food Engineering Department, Izmir, Turkey. Electron. J. Environ., Agric. Food Chem. 2. 593-608.

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, (2002a). Regulamento (CE) nº 1774/2002, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 3 de Outubro, que estabelece regras sanitárias relativas aos subprodutos animais não destinados ao consumo humano. J. Of. das Comunidades Europeias L 273. 1-95.

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, (2002b). Directiva n.º 2002/32/CE, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 7 de Maio, relativa às substâncias indesejáveis nos alimentos para animais. J. Of. das Comunidades Europeias L140. 10-21

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, (2002c). Regulamento (CE) nº 178/2002, do Parlamento Europeu e do Conselho, de 28 de Janeiro, que estabelece os princípios gerais e os requisitos da legislação alimentar, cria a autoridade alimentar europeia e estabelece procedimentos em matéria de segurança alimentar. J. Of. das Comunidades Europeias L 31. 1-24

Parlamento Europeu e Conselho da União Europeia, (2004). Regulamento (CE) n.º 882/2004 do Parlamento Europeu e do Conselho, de 29 de Abril, relativo aos controlos oficiais realizados para assegurar a verificação do cumprimento da legislação relativa aos alimentos para animais e aos géneros alimentícios e das normas relativas à saúde e ao bem-estar dos animais. J. Of. da União Europeia L 165. 1-141

Penteado, J.; Vaz, J., (2001). O legado das bifenilas policloradas (PCBs). Instituto de Química USP, São Paulo, Brasil. Quim. Nova, 24 (3). 390-398

Pereira, M. (2004). Polychlorinated Dibenzo-*p*-dioxins (PCDD), Dibenzofurans (PCDF) and Polychlorinated Biphenyls (PCB): Main sources, environmental behaviour and risk to man and biota. Universidade Federal Fluminense, Rio Janeiro, Brasil. Quim. Nova, 27, (6). 934-943

Pirard, C., Pauw, E., (2004). Uptake of polychlorodibenzo-*p*- dioxins, polychloro-

- dibenzofurans and coplanar polychloro-biphenyls in chickens. University of Liège, Liège, Belgium. *Environ. International*, 31(4). 585-591
- Rappe, C., (2003). Sources and environmental concentrations dioxins and related compounds. Institute of Environmental Chemistry, Umea University, Umea, Sweden. *Pure & Appl. Chem.* 68. 1781-1789
- Roots, O., Schramm, K., Simm, M., Henkelmann, B., Lankov, A., (2006) Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxins and dibenzofurans in Baltic herring and sprat in the north-eastern part of the Baltic Sea. *Proc. Estonian Environmental Research Centre*, Tallinn, Estonia. *Estonian Acad. Sci. Biol. Ecol.*, 55 (1). 51-60
- Roots, O., Simm, M., (2007). Polychlorinated dibenzo-*p*-dioxin, dibenzofuran and biophenyl content in selected groups of Baltic herring and sprat from Estonian coastal waters in 2006. *Estonian Environmental Research Centre*, Tallinn, Estonia. *Oceanologia*, 49, (3). 293–303
- Russell, H., Plumb, J., (2004), Fingerprint analysis of contaminant data: A forensic tool for evaluating environmental contamination. National Exposure Research Laboratory Environmental Sciences Division, Las Vegas, USA. Office of Research and Development, United States Environmental Protection Agency. pp 27
- Ryan, J., Lizotte, R., Sakuma, T., Mori, B., (1985). Chlorinated Dibenzo-*p*-dioxins, Chlorinated Dibenzofurans, and Pentachlorophenol in Canadian Chicken and Pork Samples. Health Protection Branch, Ottawa, Canada. *J Agri Food Chem*, 33. 1021-1026
- Safa, B., (1998). Role of the aromatic hydrocarbon receptor in the suppression of cytochrome P450 2C11 by polycyclic aromatic hydrocarbons. A thesis submitted for the degree of Master of Science, University of Toronto, Canada. pp 110
- Sahlberg, C., Pohjanvirta, R., Gao, Y., Alaluusua, S., Tuomisto, J., Lukinmaa, P., (2002). Expression of the mediators of dioxin toxicity, aryl hydrocarbon receptor (AHR) and the AHR nuclear translocator (ARNT), is developmentally regulated in mouse teeth. University of Helsinki, Helsinki, Finland. *Int. J. Dev. Biol.* 46. 295-300
- Schechter, A., Dai, L., Thuy, L., Quynh, H., Minh, D., Cau, H., Phiet, P., Nguyen, N., Constable, J., Baughman, R., (1995). Agent Orange and the Vietnamese: the persistence of elevated dioxin levels in human tissues. University of New York Health Science, New York, USA. *Am. J. Public Health*, 85 (4). 516-522
- Schechter, A.; Dai, L.; Papke, O.; Prang, J.; Constable, J.; Matsuda, M.; Thau, V.; Piskac, A., (2001). Recent Dioxin Contamination from Agent Orange in Residents of a Southern Vietnam City. University of Texas School of Public Health, Dallas, USA. *J. Occup. Environ. Med.* 43. 435-443
- Schepens, P., Covaci, A., Jorens, P., Hens, L., Scharpé, S., Larebeke, N. (2001). Surprising

Findings Following a Belgian Food Contamination with Polychlorobiphenyls and Dioxins. University of Antwerp, Wilrijk, Belgium. *Environmental Health Perspectives*. 109(2). 101-103

Stringer, R.; Labunska, I.; Brigden, K.; Santillo, D., (2002). Chemical Stockpiles at Union Carbide India Limited in Bhopal: an investigation. Greenpeace Research Laboratories. pp 95

Swanson, H.I. and Bradfield, C.A. (1993). The Ah-receptor: genetics, structure and function. Northwestern University Medical School, Chicago, Illinois, USA. *Pharmacogenetics* 3(5): 213-230

Todd, J. (2003). Wood-Smoke Handbook: Woodheaters, Firewood and Operator Practice. University of Tasmania, Australia. Natural Heritage Trust. pp 38

United States Environment Protection Agency, (1994). The 1994 EPA Dioxin Reassessment, Health Assessment, Volume III: Risk Characterization. Washington, DC, USA.

United States Environment Protection Agency, (1994b). Method 1613 revision B - Tetra-through Octa-Chlorinated Dioxins and Furans by Isotope Dilution HRGC/HRMS. Washington, USA. pp 89

United States Environment Protection Agency, (2005). The Inventory of Sources and Environmental Releases of Dioxin-Like Compounds in the United States: The Year 2000 Update. Washington, USA.

United States Environmental Protection Agency, (2004). Office of Research and Development, Information Sheet 2. Dioxin: Scientific Highlights from the NAS Review Draft of EPA's Dioxin Reassessment. Washington, USA. pp 6

Van den Berg, M.; Birnbaum, L.; Bosveld, A.; Brunström, B.; Cook, P.; Feeley, M.; Giesy, J.; Hanberg, A.; Hasegawa, R.; Kennedy, S.; Kubiak, T.; Larsen, J.; Rolaf van Leeuwen, F.; Liem, A.; Nolt, C.; Peterson, R.; Poellinger, L.; Safe, S.; Schrenk, D.; Tillitt, D.; Tysklind, M.; Younes, M.; Waern, F.; Zacharewski, T., (1998). Toxic equivalency factors (TEFs) for PCBs, PCDDs, PCDFs for humans and wildlife. Utrecht University, Utrecht, The Netherlands. *Environ. Health Perspectives*, 106 (12). 775-792

Vellinga, A. and van Loock, F. (2002). The Dioxin Crisis as Experiment To Determine Poultry-Related *Campylobacter* Enteritis. Institute of Public Health–Louis Pasteur, Brussels, Belgium. *Emerging Infectious Diseases*, 8 (1); 19-22.

Watterson, J., Buckley-Golder, D., Woodfield, M., (1999). Environmental Transport and Fate of Dioxins and the Modelling of these Processes. AEA Technology. Oxfordshire, UK. National Environmental Technology Centre. pp 117

Weiss, J., (2006). Human exposure to persistent organic pollutants. Department of Environmental Chemistry, Stockholm University, Stockholm, Sweden. pp 89

WHO, (1993). Polychlorinated biphenyls and terphenyls. WHO European Centre for Environment and Health, International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland. 2nd ed. pp 682

WHO, (1998). Assessment of the health risk of dioxins: re-evaluation of the Tolerable Daily Intake (TDI). WHO European Centre for Environment and Health, International Programme on Chemical Safety. Geneva, Switzerland. pp 28

Wunderli, S., Zennegg, M., Dolezal, I., Gujer, E., Moser, U., Wolfensberger, M., Hasler, P., Noger, D., Studer, C., Karlaganis, G., (2000). Determination of polychlorinated dibenzo-p-dioxins and dibenzo-furans in solid residues from wood combustion by HRGC/HRMS. Swiss Federal Laboratories for Materials Testing and Research (EMPA), Dübendorf, Switzerland. Chemosphere (40). 641-649

Yoshimura, T.; Kaneko, S.; Hayabuchi, H., (2001). Sex ratio in offspring of those affected by dioxin and dioxin-like compounds: the Yusho, Seveso and Yucheng incidents. University of Occupational and Environmental Health, Kitakyushu, Japan. Occup. Environ. Med., 58. 540-541

IV. Parte – Anexos

**Anexo 1 – Mapa dos resultados obtidos em cada uma das amostras por
exploração, matriz e código**

Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006

DRA	Explo ração	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade dias	Resultado pgTEQ/g
EDM	A	15	monitorização	07.02.2006	Frango	Músculo	1F112D018	-	7,1
EDM	A		contingência	06.07.2006	Frango	Músculo	01501D119	-	0,84
EDM	B	18	monitorização	03.04.2006	Frango	Músculo	01501D144	6	12,58
EDM	B		contingência	13.07.2006	Frango	Músculo	01501D123	15	1,88
EDM	C	19	monitorização	04.04.2006	Frango	Músculo	01501D128	6	31,79
EDM	C	11C	contingência	06.07.2006	CAMA	APARA S	01501D122	-	187,6
EDM	C	21	contingência	06.07.2006	Frango	Músculo	01501D121	15	21,38
EDM	D	20	monitorização	04.04.2006	Frango	Músculo	01501D145	5	6,02
EDM	D		contingência	21.06.2006	Frango	Músculo	01102D134	19	1,67
EDM	D		contingência	21.06.2006	Frango	Músculo	01102D133	19	1,63
EDM	E		monitorização	28.03.2006	Frango	Músculo	01501D143	8	1,17
BL	F		monitorização	23.01.2006	Frango	Músculo	D009	33	0,73
BL	G	17	monitorização	14.02.2006	Perú	Músculo	03562D001	27	10,17
BL	G		contingência	20.06.2006	Perú	Músculo	03162D001	48	0,93
BL	G		contingência	20.06.2006	Perú	Músculo	03162D002	27	0,8
BL	H	16	monitorização	15.02.2006	Frango	Músculo	03541D001	6	14,59
BL	H	18C	contingência	11.08.2006	CAMA	Apara	03141D002	8	2,06
BL	H	22	contingência	11.08.2006	Frango	Músculo	03141D001	8	6,33
BL	H	24	contingência	28.09.2006	Frango	Músculo	03141D004	43	24
BL	H	23	contingência	11.08.2006	Frango	Músculo	03141D003	1	6,7
BL	H		contingência	24.10.2006	Alimento	Ração	03141D006	-	0,026
BL	H		contingência	24.10.2006	Água	Água	03141D005	-	0,035
BL	I		monitorização	06.02.2006	Frango	Músculo	D017	33	1
BL	J		monitorização	26.01.2006	Frango	Músculo	1E312D013	33	0,97
BL	K	13	monitorização	26.01.2006	Frango	Músculo	1E312D012	33	18,39

BL	K		contingência	05.09.2006	Frango	Músculo	03162D006	36	0,99
BL	K	13C	contingência	05.09.2006	CAMA	Aparas	03162D007	36	0,19
BL	L		contingência	16.02.2006	Frango	Músculo	03521D001	10	1,04
BL	M	7C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D004	-	106,6
BL	N	8C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D005	-	0,058
BL	O	9C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D006	-	0,89
BL	P	10C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D008	-	0,082
BL	Q	4C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Arroz	03500D001	-	0,061
BL	R	5C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D002	-	0,52
BL	S	6C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D003	-	0,11
RO	T	2	monitorização	08.06.2004	Frango	Músculo	17512D016	33	4.88
RO	T	1	monitorização	02.06.2004	Frango	Músculo	17312D015	-	2,31
RO	T	7	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D300	21	7.05
RO	T	3	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D291	21	10.15
RO	T	4	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D292	18	7.08
RO	T	5	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D293	15	13.32
RO	T	6	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D294	21	5.71
RO	T	1C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D004	14	29.2
RO	T	2C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D005	10	111.1
RO	T	3C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D006	7	75.6
RO	T		contingência	25.11.2005	Alimento	Ração	05521D001	14	0.11
RO	T		contingência	25.11.2005	Alimento	Ração	05521D002	10	0.412
RO	T		contingência	25.11.2005	Alimento	Ração	05521D003	7	0.092
RO	T	8	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D007	14	8.18
RO	T	9	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D008	10	7.55
RO	T	10	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D009	7	21.11
RO	U	12	monitorização	25.01.2006	Frango	Músculo	1G512D011	33	8,07
RO	U		contingência	27.07.2006	Frango	Músculo	05121D001	9	1,23
RO	V	14	monitorização	26.01.2006	Perú	Músculo	05533D002	20	50,89
RO	X	44	monitorização	26.01.2006	Perú	Músculo	05533D001	20	5,43
RO	X		contingência	20.07.2006	Perú	Músculo	05133D2268	35	0,74

RO	Y		monitorização	26.01.2006	Frango	Músculo	05513D203	6	1,83
RO	Z		monitorização	06.02.2006	Frango	Músculo	1E512D015	33	1,94
RO	AA		monitorização	06.02.2006	Frango	Músculo	1E512D016	33	1,37
RO	AB	11	monitorização	24.01.2006	Frango	Músculo	05513D238	4	12,51
RO	AC		monitorização	25.01.2006	Frango	Músculo	1G512D010	33	0,62
RO	AD	26	monitorização	25.01.2006	PATO	Músculo	05513D246	6	13,2
RO	AD	28	contingência	24.08.2006	PATO	Músculo	05103D223	50	5,75
RO	AD	14C	contingência	24.08.2006	CAMA	Aparas	05103D255	-	0,04
RO	AD	35	contingência	04.09.2006	PATO	Músculo	05176D291 - pav.9	49	3,5
RO	AD		contingência	06.09.2006	PATO	Músculo	05176D259 - pav.13	51	1,6
RO	AD	32	contingência	29.08.2006	PATO	Músculo	05176D286 - pav.29	50	5,6
RO	AD	30	contingência	11.09.2006	PATO	Músculo	05176D227 - pav. 22	14	3,6
RO	AD	31	contingência	11.09.2006	PATO	Músculo	05176D234 - pav.18	25	7,2
RO	AD	34	contingência	31.08.2006	PATO	Músculo	05176D235 - Pav.12	49	4,2
RO	AD	27	contingência	07.06.2006	PATO	Músculo	05176D244 - Pav.14	49	3,2
RO	AD		contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D199 - Pav. 18	41	1,6
RO	AD	37	contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D166 - Pav.19	37	4
RO	AD		contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D191 - Pav. 20	37	1,3
RO	AD	38	contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D171 - Pav. 21	34	2,4
RO	AD		contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D169 - Pav.22	30	2
RO	AD		contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D162 - Pav.23	23	1,6
RO	AD		contingência	27.09.2006	PATO	Músculo	05176D173 - Pav.24	20	1,4
RO	AD	39	contingência	28.08.2006	PATO	Músculo	05176D300 - Pav. 28	49	8,6
RO	AD		contingência	06.10.2006	PATO	Músculo	05135D185 - Pav. 22	39	1,45
RO	AD		contingência	06.10.2006	PATO	Músculo	05135D197	29	1,64
RO	AD	40	contingência	06.10.2006	PATO	Músculo	05135D200 Pav.1	8	13,57
RO	AD	36	contingência	04.09.2006	PATO	Músculo	05176D291c a - pav.9	49	3,54
RO	AD	33	contingência	29.08.2006	PATO	Músculo	05176D286c a - pav.29	50	3,59
RO	AD		contingência	19.10.2006	PATO	Músculo	05176D172 - Pav.9	38	0,87
RO	AD		contingência	19.10.2006	PATO	Músculo	05176D177- Pav. 21	56	0,97

RO	AD		contingência	19.10.2006	PATO	Músculo	05176D161 - Pav. 19	-	0,92
RO	AD		contingência	27.10.2006	PATO	Músculo	05176D165 Pav. 12	43	1,12
RO	AD		contingência	27.10.2006	PATO	Músculo	05176D175 Pav. 1	29	0,92
RO	AD		contingência	27.10.2006	PATO	Músculo	05176D176 Pav. 14	39	1,13
RO	AD	41	contingência	28.08.2006	PATO	Músculo	05176D300 ca	49	11,5
RO	AD	42	contingência	31.08.2006	PATO	Músculo	05176D235 ca	49	4,1
RO	AD	43	contingência	07.06.2006	PATO	Músculo	05176D244 ca	49	4,7
RO	AD		contingência	27.10.2006	PATO	Músculo	05176D168 Pav. 15	39	0,92
RO	AE	25	monitorização	25.01.2006	PATO	Músculo	05513D243	21	77,93
RO	AF	29	contingência	25.08.2006	PATO	Músculo	05003D002	49	4,88
RO	AG		contingência	24.08.2006	Frango	Músculo	05003D001	31	1,16
RO	AG	12C	contingência	05.09.2006	CAMA	arroz	05003D003	-	0,574
RO	AH	15c	monitorização	12.07.2006	CAMA	arroz	05040D736	-	0,056
RO	AI	17c	monitorização	17.07.2006	CAMA	arroz	05001D002	-	0,045
RO	AJ	16c	monitorização	13.07.2006	CAMA	arroz	05040D737	-	4,4
ALEN	AK		monitorização	10.02.2006	Frango	Músculo	1G512D014	33	0,96
ALEN	AL		monitorização	22.06.2006	Frango	Músculo	06510D001	6	1,84
ALEN	AM		monitorização	22.06.2006	Galinhas	Músculo	06503D001	8	1,78
ALEN	AN		monitorização	23.06.2006	Perú	Músculo	06503D002	90	0,33
BI	AO		monitorização	24.11.2006	Frango	Músculo	04530D1527	35	1,66

Anexo 2 – Mapa dos resultados obtidos nas amostras de camas de aves

Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 1 - CAMAS</i>									
DRA	Explo ração	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Espécie produzi da	Resultados (pgTEQ/g)
BL	S	6C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D003		0,11
BL	P	10C	monitorização	16.01.2006	CAMA	Aparas	03500D008		0,082
RO	AH	15c	monitorização	12.07.2006	CAMA	arroz	05040D736		0,056
RO	AI	17c	monitorização	17.07.2006	CAMA	arroz	05001D002		0,045
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 2 - CAMAS</i>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Espécie produzi da	Resultados (pgTEQ/g)
BL	Q	4C	monitorização	16-01-2006	CAMA	arroz	03500D001		0,061
BL	K	13C	contingência	05-09-2006	CAMA	Aparas	03162D007	Frango	0,19
RO	AD	14C	contingência	24-08-2006	CAMA	Aparas	05103D255	Pato	0,04
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 3 - CAMAS</i>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Espécie produzi da	Resultados (pgTEQ/g)
RO	T	1C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D004	Frango	29.2
RO	T	2C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D005	Frango	111.1
RO	T	3C	contingência	25.11.2005	CAMA	Aparas	05521D006	Frango	75.6
BL	R	5C	monitorização	16-01-2006	CAMA	Aparas	03500D002		0,52
BL	M	7C	monitorização	16-01-2006	CAMA	Aparas	03500D004		106,6
BL	O	9C	monitorização	16-01-2006	CAMA	Aparas	03500D006		0,89
EDM	C	11C	contingência	06.07.2006	CAMA	Aparas	01501D122	Frango	187,6
RO	AG	12C	contingência	05-09-2006	CAMA	arroz	05003D003	Frango	0,574
RO	AJ	16c	monitorização	13-07-2006	CAMA	arroz	05040D737		4.4
BL	H	18C	contingência	11.08.2006	CAMA	Aparas	03141D002	Frango	2,06

Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 *Perfil não enquadrável - CAMAS*

DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Espécie produzi da	Resultados (pgTEQ/g)
BL	N	8C	monitorização	16-01-2006	CAMA	Aparas	03500D005		0,058

Anexo 3 – Mapa dos resultados obtidos nas amostras de carnes de aves

Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 1 - CARNES</i>									
DRA	Exploração	Amostra N°	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	U	12	monitorização	25-01-2006	Frango	Músculo	1G512D011	33	8,07
EDM	A	15	monitorização	07-02-2006	Frango	Músculo	1F112D018	-	7,1
EDM	D	20	monitorização	04-04-2006	Frango	Músculo	01501D145	5	6,02
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 2 - CARNES</i>									
DRA	Exploração	Amostra N°	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	AB	11	monitorização	24-01-2006	Frango	Músculo	05513D238	4	12,51
EDM	B	18	monitorização	03.04.2006	Frango	Músculo	01501D144	6	12,58
BL	H	22	contingência	11.08.2006	Frango	Músculo	03141D001	8	6,33
BL	H	23	contingência	11.08.2006	Frango	Músculo	03141D003	1	6,7
RO	AD	26	monitorização	25-01-2006	PATO	Músculo	05513D246	6	13,2
RO	AF	29	contingência	25-08-2006	Pato	Músculo	05003D002	49	4,88
RO	AD	39	contingência	28-08-2006	PATO	Músculo	05176D300 - Pav. 28	49	8,6
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 3 - CARNES</i>									
DRA	Exploração	Amostra N°	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	T	3	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D291	21	10.15
RO	T	4	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D292	18	7.08
RO	T	6	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D294	21	5.71
RO	T	7	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D300	21	7.05
EDM	C	21	contingência	06.07.2006	Frango	Músculo	01501D121	15	21,38

Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 4 - CARNES</i>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/ Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	T	2	monitorização	08.06.2004	Frango	Músculo	17512D016	33	4,88
RO	T	8	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D007	14	8.18
RO	T	9	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D008	10	7.55
RO	T	10	contingência	25.11.2005	Frango	Músculo	05521D009	7	21.11
BL	K	13	monitorização	26-01-2006	Frango	Músculo	1E312D012	33	18,39
BL	H	16	monitorização	15.02.2006	Frango	Músculo	03541D001	6	14,59
EDM	C	19	monitorização	04.04.2006	Frango	Músculo	01501D128	6	31,79
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 5 - CARNES</i>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/ Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	AD	27	contingência	07-06-2006	PATO	Músculo	05176D244 - Pav.14	49	3,2
RO	AD	30	contingência	11-09-2006	PATO	Músculo	05176D227 - pav. 22	14	3,6
RO	AD	31	contingência	11-09-2006	PATO	Músculo	05176D234 - pav.18	25	7,2
RO	AD	32	contingência	29-08-2006	PATO	Músculo	05176D286 - pav.29	50	5,6
RO	AD	35	contingência	04-09-2006	PATO	Músculo	05176D291 - pav.9	49	3,5
RO	AD	37	contingência	27-09-2006	PATO	Músculo	05176D166 - Pav.19	37	4
RO	AD	38	contingência	27-09-2006	PATO	Músculo	05176D171 - Pav. 21	34	2,4
RO	AD	41	contingência	28-08-2006	PATO	Músculo	05176D300 ca	49	11,5
Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>CLUSTER 6 - CARNES</i>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/ Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	T	5	contingência	22.07.2005	Frango	Músculo	05521D293	15	13.32
RO	V	14	monitorização	26-01-2006	Perú	Músculo	05533D002	20	50,89

BL	H	24	contingência	28.09.2006	Frango	Músculo	03141D004	43	24
RO	AE	25	monitorização	25-01-2006	PATO	Músculo	05513D243	21	77,93
RO	AD	33	contingência	29-08-2006	PATO	Músculo	05176D286ca - pav.29	50	3,59
RO	AD	34	contingência	31-08-2006	PATO	Músculo	05176D235- Pav.12	49	4,2
RO	AD	36	contingência	04-09-2006	PATO	Músculo	05176D291ca - pav.9	49	3,54
RO	AD	40	contingência	06-10-2006	PATO	Músculo	05135D200 Pav.1	8	13,57
RO	AD	42	contingência	31-08-2006	PATO	Músculo	05176D235 ca	49	4,1
RO	AD	43	contingência	07-06-2006	PATO	Músculo	05176D244 ca	49	4,7
RO	X	44	monitorização	26-01-2006	Perú	Músculo	05533D001	20	5,4
<p>Detecção Dioxinas no Plano Nacional Monitorização Dioxinas 2006 <i>Perfis não enquadráveis - CARNES</i></p>									
DRA	Explor ação	Amos- tra Nº	Tipo de Colheita	Data da Colheita	Espécie	Matriz	Código	Idade/ Dias	Resultado pgTEQ/g
RO	T	1	monitorização	02.06.2004	Frango	Músculo	17312D015	-	2,31
BL	G	17	monitorização	14.02.2006	Perú	Músculo	03562D001	27	10,17
RO	AD	28	contingência	24-08-2006	PATO	Músculo	05103D223	50	5,75

Anexo 4 - Comunicado à avicultura



DGV
Direcção Geral
de Veterinária
Ministério da Agricultura,
do Desenvolvimento Rural e das Pescas

Gabinete do Director-Geral

Exm^(o) Senhor
Presidente da Federação Portuguesa
das Associações Avícolas – FEPASA
Rua Elias Garcia, 30
Venda Nova
2704-507 AMADORA

Nossa referência
Of. 07/G de 12/01/2006

Vossa referência

Assunto: Segurança sanitária de camas de aves

A Direcção Geral de Veterinária recebeu, no dia 9 de Janeiro de 2006, três boletins de análise remetidos pelo INETI (LAQAS) que revelavam teores muito elevados de compostos policlorados tricíclicos aromáticos congêneres dos grupos das dibenzodioxinas e dos dibenzo-furanos em camas de aves recolhidas num aviário português. Os teores encontrados foram respectivamente: 29,2 pg/g, 111,1 pg/g e de 75,6 pg/g de gordura extraída dos materiais de cama (boletins anexos). Estes materiais analisados eram constituídos por aparas de pinho e serradura de madeira de cascas de pinheiro, com sinais evidentes de terem sido obtidos de árvores ardidas durante os fogos de Verão que têm ocorrido ciclicamente em Portugal.

Também nos frangos criados sobre estas camas foram detectados teores de dioxinas e de furanos acima dos limites máximos admitidos na legislação em vigor (Regulamento (CE) nº 2375 /2001 de 29 de Novembro); por isso estas aves foram sacrificadas e destruídas, conforme determinam as disposições legais.

Por ser evidente que estes materiais são utilizados nos aviários portugueses, vimos solicitar que divulguem junto dos vossos associados um conjunto de medidas que visam controlar esta grave situação e cuja solução passa pela substituição do uso destes tipo de materiais nas camas dos animais:

1. Fica proibida a utilização de serradura ou aparas de madeira de pinho obtidas a partir de pinheiros ardidos, em aviários de criação de frangos, perus, codornizes e patos para produção de carne e de frangas de recria para postura.



DGV
Direcção Geral
de Veterinária
Ministério da Agricultura,
do Desenvolvimento Rural e das Pescas

Gabinete do Director-Geral

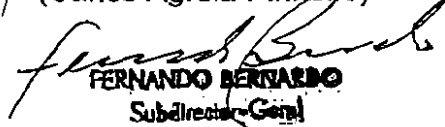
2. Nos aviários que estão a utilizar estes materiais, deve proceder-se à remoção integral de todas as camas contaminadas. Pode ser usado com índice de contaminação a presença de partículas de carvão facilmente observáveis ou aparas com pontas queimadas.
3. A fim de evitar a contaminação ambiental de cursos de águas, ou produções hortícolas e de pastagens, as camas com sinais de conterem restos de materiais ardidos, que são retiradas dos pavilhões não podem ser utilizadas em solos agrícolas, devendo ser depositadas em aterros ou incineradas, uma vez que podem ser classificados como materiais da categoria 1, nos termos do artigo 4º alínea c) do parágrafo 1, do Regulamento (CE) nº 1774/2002 de 3 de Outubro.
4. O repovoamento dos aviários só pode ser efectuado, após a substituição das camas contaminadas por outras camas isentas destes perigos químicos, devendo no contexto das Boas Práticas da Produção Avícola ser efectuadas análises esporádicas aos materiais usados nas camas, para pesquisa de dioxinas, e serem arquivados os respectivos resultados juntamente com os outros registos a que as explorações estão obrigadas, no "âmbito das informações" à cadeia alimentar tornadas necessárias pela aplicação do Regulamento (CE) nº 852/2004 de 29 de Abril à produção primária (alínea d), do parágrafo 8, da parte A do Anexo I).

Mais se informa que a aplicação destas medidas ao nível da produção avícola será controlada oficialmente pelos serviços veterinários das Direcções Regionais de Agricultura, nos termos da legislação em vigor. Neste contexto, sempre que for detectada a falta de cumprimento das medidas descritas de 1 a 4, a exploração será colocada sob "controlo oficial", será interdita a movimentação das aves, proceder-se-á à colheita de amostras "in loco", recaindo a decisão de destruição do efectivo nos casos em que se verifique que os limites máximos admitidos foram ultrapassados (2 pg/ G de gordura)

Com os melhores cumprimentos,

O DIRECTOR GERAL

(Carlos Agrela Pinheiro)


FERNANDO BERNARDO
Subdirector-Geral

LARGO DA ACADEMIA NACIONAL DE BELAS ARTES, 2 - 1249-105 LISBOA TELEF. 21 323 95 00 FAX. 21 346 35 18